

トピックス ヒト NK 細胞受容体

日赤中央血液センター研究部

屋部 登志雄

Natural Killer (NK) 細胞の研究は最近急速に解明が進んでいる分野の一つである。ここでは続々と発見されているヒトのNK細胞受容体（以下NK受容体）について特にリガンドであるHLA抗原との関連を中心に述べる。なお都合により個々の文献は省略するので総説¹⁶を参照されたい。

はじめに

NK細胞は感作を必要とせず、ウイルス、細菌などの感染細胞、腫瘍細胞、同種異型細胞を傷害し、またIFN- γ 、TGF- β などのサイトカイン産生や他の細胞の増殖、分化調節の働きも示すリンパ球である。こうした機能を通じてNK細胞は感染防御、抗腫瘍効果、移植片拒絶反応、輸血副作用、妊娠の維持、自己免疫疾患などの事象に参与する。NK細胞は正常細胞を傷害しないので何らかの標的認識機構の存在が推定されていたが、その実態は長い間不明であった。1980年代にKärreら¹がNK標的細胞ではMHCクラスI抗原の細胞表面発現が著しく減少していることから「NK細胞は自己MHC抗原を消失した細胞を傷害する」という“ミッシングセルフ仮説”（図1）を提出した。ここで存在が仮定された自己クラスI抗原を認識して傷害性を止めるような信号を出す抑制性のNK受容体がその後発見され、NK細胞の認識機構はこの説で大筋が説明できるようになった。CD8陽性 $\alpha\beta$ 型T細胞の抗原認識はクラスI抗原に依存し、クラスI分子を表面発現しない細胞はキラーT細胞からの攻撃を免れてしまうため、生体にとって非常に危険な存在である。NK細胞はこうした細胞を「自己マーカーを消失した異常な細胞」として捉え監視している。一方、クラスI分子が陰性でも傷害されない細胞もある（赤血球や神経細胞など）のでNK感受性標的細胞上の標的抗原を認識して傷害性を引き起こす信号を伝達する活性化型受容体が存在し、抑制型受容体からの信号とのバランスで標的細胞を傷害するか否かが決定されると考えられた（図2）。この活性化型のNK受容体も最近になって相次いで発見された。以下ではNK受容体を構造、リガンド、遺伝子複合体の点から整理した。

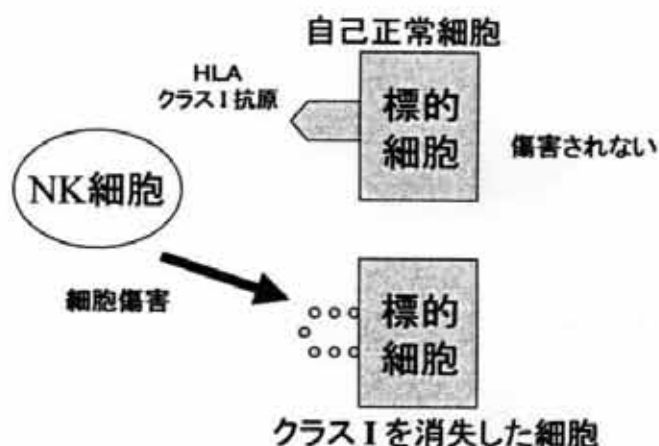
1、NK受容体の種類

抑制型、活性化型NK受容体にはそれぞれイムノグロブリン（Ig）型とレクチン様型がある。

① 抑制型と活性化型

抑制型受容体に共通する特徴は長めの細胞質部分を持ち、そこにImmunoreceptor tyrosine-based inhibition motif (ITIM) 領域と呼ばれるチロシン残基を中心としたモチーフが存在することである。細胞外部分でリガンドのクラスI分子を認識するとITIM内のチロシン残基リン酸化が起こり脱リン酸化酵素をリクルートする。これが活性化経路中の分子を脱リン酸化することで正のシグナル伝達系が遮断され、傷害性が起きなくなる。このITIMによる負の活性制御は最近NK受容体以外でも見出されており、多くの細胞に共通する調節機構のようだ。一方活性化型は抑制型に比べて細胞質部分は短く、シグ

図1 ミッシングセルフ説



ナル伝達などのモチーフをもたない。ところが膜貫通部分に正荷電のアミノ酸残基がありこの部分を介して Immunoreceptor tyrosine-based activation motif (ITAM)領域と呼ばれるモチーフをもつシグナル伝達分子と結合し複合体を形成している。細胞外部分がリガンド抗原を認識すると ITIM 内のチロシン残基リン酸化が起これ、活性化のカスケードが誘導され、細胞傷害性が惹起される(図3)。

② Ig型

Ig 型には Killer Immunoglobulin-like Receptor(KIR), Leukocyte Immunoglobulin-like Receptor(LIR), Natural Cytotoxicity Receptor (NCR) の3ファミリーがある(図4)。[KIR]: 抑制性のヒトクラス I 認識

NK 受容体として初めて発見されたのが KIR ファミリーである。当初は Killer Inhibitory Receptor から KIR と命名されたがその後活性化型も発見され(一時はこれらを Killer Activating Receptor, KAR と呼んだ)、現在

図2 抑制性と活性化シグナルのバランス

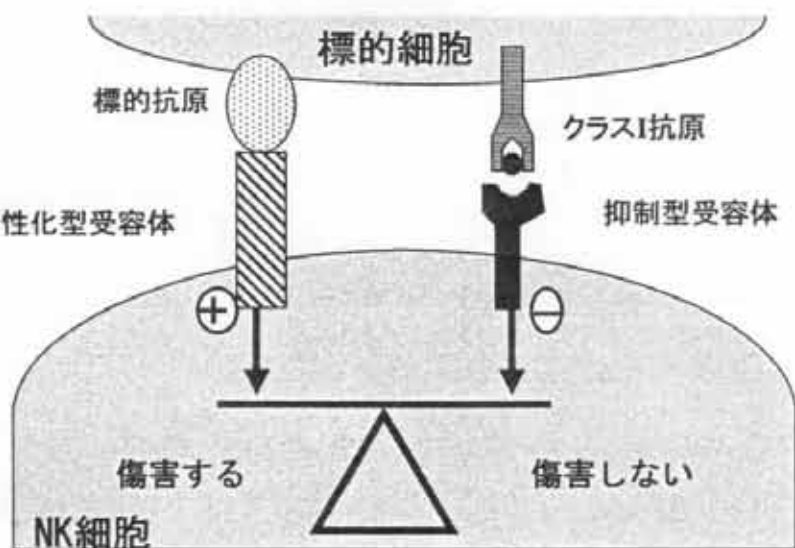


図3 抑制型受容体と活性化型受容体のシグナル伝達

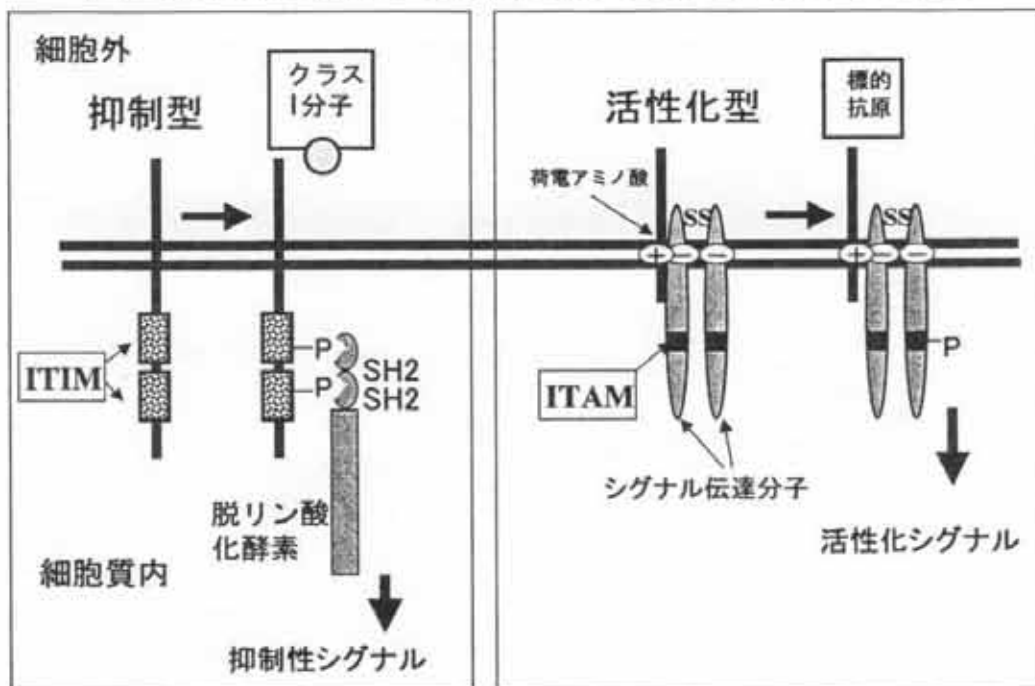
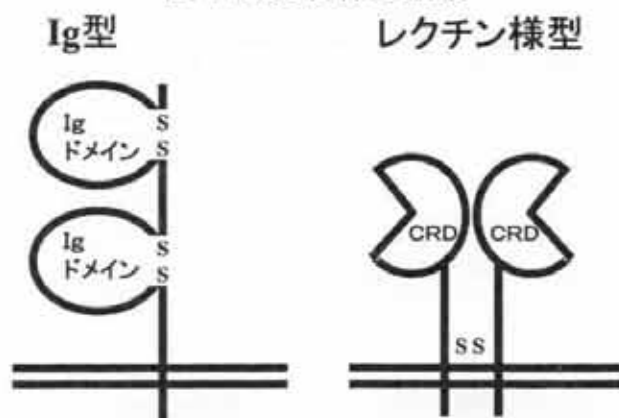


図4 NK受容体の種類



Ig型
 KIR (KIR2D, KIR3D)
 LIR (LIR, ILT, LAIR)
 NCR (NKp46, NKp44, NKp30)
 2B4

レクチン様型
 NKG2A/CD94, NKG2C/CD94
 NKG2D
 NKR-P1
 Ly-49

では両者を総称して Killer Immunoglobulin-like Receptor (KIR)と呼んでいる。さらに ITIM 領域があり細胞質部分が長いもの (抑制型) を L (Long), ITIM 領域がなく短い細胞質部分をもつもの (活性化型あるいは非抑制型) を S (Short) とし、さらに Ig ドメインの数で 2D, 3D と区別する (例: KIR2DL1, KIR3DS2) 命名法が 1998 年に提案された。後述するように主に HLA-C と HLA-B を認識し、抑制型受容体としては最も優勢に働く重要な受容体である。[LIR]: KIR と相同性をもつ LIR ファミリー (LIR1-8, ILT1-10, LAIR など) は主としてマクロファージ、樹状細胞、B 細胞などの抗原提示 (APC) 細胞に発現するが一部は NK 細胞で発現し NK 受容体として機能する。リガンドはクラス I、ウイルス抗原である。ITIM をもつ抑制型と Fc γ 鎖と複合体を形成する活性化型がある。また LIR は APC の分化、活性化、貪食作用などに関与することが報告されている。[NCR]: 主に NK 細胞にのみ発現する活性化受容体ファミリーが NCR である。NKp44 は DAP-12 と NKp46, NKp30 は CD3 ζ 鎖と結合している。NKp46 のリガンドはインフルエンザウィルスタンパクである。NCR には抑制型のペアは存在しない。[その他]: 2B4 は CD48 がリガンドで NK 細胞、T 細胞、単球、好塩基球などに発現し Alternative splicing で抑制型 (2B4L) と活性化型 (2B4S) が作られる。抑制型は ITIM をもつ。他に gp49, By55, Siglec7 など NK 受容体として働く可能性が示されている。

③ レクチン様型

レクチン型は Ca イオン依存性に糖鎖と結合する糖鎖認識ドメイン Carbohydrate Recognition Domain (CRD) と相同性をもつ領域があるのでこのように呼ばれるが、ポリペプチド鎖部分を認識するのが殆どなのでレクチン様型と呼ぶ方が正確である。

[NKG2/CD94]: NKG2 ファミリーは筆者らが 1990 年にクローニングしたがその後 CD94 分子と複合体を形成することや、非古典的クラス I がリガンドであることが判明した。NKG2A/CD94 は抑制型で ITIM をもち、NKG2C/CD94 が活性化型で

DAP-12 と結合している。一方 NKG2D は他の NKG2 分子との相同性は低くホモダイマー構造で DAP10 分子と会合した活性化型である (図 4)。[NKR-P1]: ヒト NKR-P1A (CD161) は NK 細胞で発現するリガンド、機能ともに不明である。げっ歯類では A, B, C の 3 種類が存在する。マウスの NKR-P1B は NK 細胞で発現する抑制性の受容体だが NKR-P1A は活性化型である。NKR-P1C は NK1.1 抗体が認識し NKT 細胞のマーカーとしても使われている。[Ly-49]: マウスで古典的クラス I 分子を認識するのが Ly-49 ファミリーであり、ホモダイマー構造をとる。抑制型は ITIM を 1 つもち、活性化型は DAP12 と結合している。マウスでは 10 種類以上あるが、ヒトでは偽遺伝子 1 個しか見つかっていない。

2. NK 受容体のリガンド (図 5)

① 古典的クラス I 抗原

HLA-C 抗原は KIR2D に認識される。この認識にはクラス I のアロ特異性を担う配列を含み、またペプチド結合溝の一部を構成する α 1 ドメインの 77-83 番付近の配列が重要であり、さらに 77 番と 80 番のアミノ酸配列の違いにより 2 グループの特異性が決定される。KIR2DL1, 2DS1, 2DS3 (CD158a) は Cw2, w4, w5, w6 (グループ 1 または C2 と呼ばれる) でこれらはすべて α 1 ドメインの 77 番がアスパラギン、80 番がリジンである。一方 KIR2DL2, 2DL3, 2DS2 (CD158b) は Cw1, w3, w7, w8 (グループ 2 または C1) と結合し、

この場合は77番がセリン、80番がアスパラギンである。KIR3Dは主にHLA-B、HLA-Aを認識する。KIR3DL1がHLA-Bw4、KIR3DL2がHLA-A3,A11である。

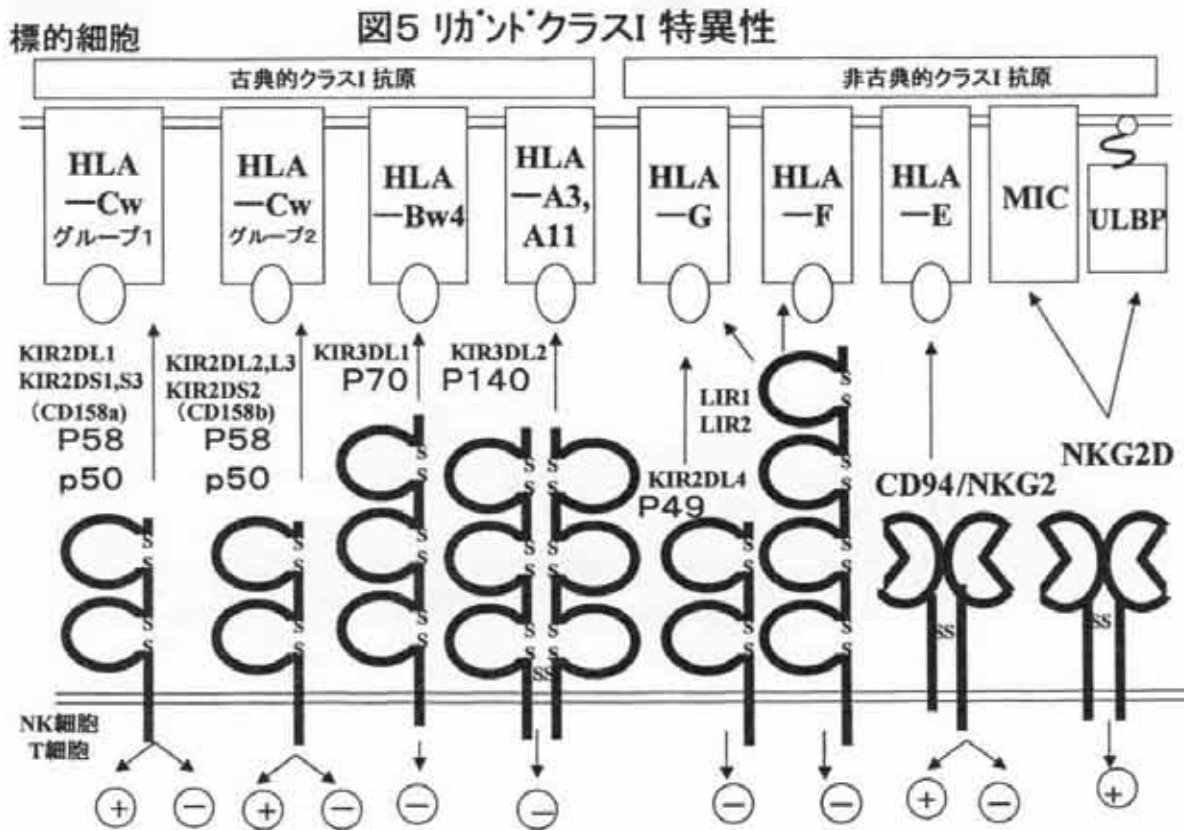
② 非古典的クラスI抗原

NKG2A/CD94 および NKG2C/CD94 は HLA-E 抗原を認識する。HLA-E 抗原は他のクラス I 分子シグナル配列（リーダーペプチド）中の疎水性アミノ酸9残基からなるペプチド（HLA-E 自身のシグナル配列中には存在しない）が結合するという特徴をもつが、HLA-G と HLA-A,C の大部分、HLA-B の一部には抑制型の NKG2A のリガンドとなるペプチド配列が含まれている一方、HLA-G 由来ペプチドのみが活性化型 NKG2C と強く結合する。胎盤のトロホプラスト細胞では HLA-C,E とともに HLA-G が発現している。KIR2DL4,LIR1,LIR2 は HLA-G がリガンドであり、子宮脱落膜内の CD56 強陽性の NK 細胞はこれらの NK 受容体を発現している。このことから胎児の胎盤では父親由来 HLA-A,B 抗原が未発現なので子宮内の母アロキラーT細胞から攻撃されず、また HLA-C,E,G 抗原が抑制性NK受容体と結合し子宮NK細胞からの傷害を防いでいるものと考えられる。LIR1,LIR2 は HLA-F も認識

する。一方ガン細胞やストレスを受けた細胞で発現する MIC 抗原は NKG2D に認識される。さらにクラス I 様分子の ULBP も NKG2D のリガンドである。HLA 以外ではインフルエンザウィルスタンパクが NKp46 の、サイトメガロウィルスタンパクの UL18 が KIR,LIR のリガンドであることが判明している。また一部の糖鎖構造もリガンドとなることが示唆されている。

3、NK 受容体遺伝子複合体 (図6)

NK 受容体遺伝子の殆どは 2 箇所の遺伝子複合体上に局在している。レクチン型は 12 番 p13.1 の Natural Killer Gene Complex (NKC) で、Ig 型は 19 番 q13.4 の Leukocyte Receptor Complex (LRC) である。例外としては NKp30、NKp44 が 6 番染色体、2B4 は 1 番染色体にある。NKC : NKG2A-F,CD94,Ly-49(偽遺伝子),NKR-P1,CD69,KLRF1(NKp80),AICL,MAFA-L, さらに Oxidized-Low density lipoprotein receptor(LOX-1, OLR1)なども NKC にマップされている。LRC : LRC 領域(約1Mb)には KIR,LIR,NKp46 がマップされている。KIR 領域に約 12 の KIR 遺伝子座が存在し、LIR 領域は LIR,ILT,LAIR など約 15 の遺伝子座からなる。各遺伝



子座にはかなりの多型性があり、KIR の場合全体で約 50 個の遺伝子型が報告されている。KIR 遺伝子型は人種による違いがあるようで、現在我々は日本人の KIR ハプロタイプ解析を進めている。KIR の下流側には Fc α R、NKp46 座が隣接している。

4、発現調節

1 個の NK 細胞は複数の NK 受容体を表面発現している。またその種類、数は同一個体の NK 細胞内でも不均一でまた多くの場合抑制型、活性化型の両者を発現している。一方リガンドの HLA クラス I も 1 つの細胞で HLA-A,B,C の最低 3 種類、HLA-E も加えると最大 7 種類までの発現があり得る。従って NK 細胞の受容体分子および標的細胞上のクラス I の種類と発現量、それぞれの信号の強弱など微妙なバランスが傷害するかどうかに影響する。ミッシングセルフ説では自己クラス I に対して抑制性に働く受容体を最低 1 種類発現しないと自己反応性となってしまうが、実際に調べられた殆ど全ての NK クローンで自己クラス I に対する抑制型受容体発現が認められることから受容体発現による NK 細胞選択機構の存在が示唆される。また自分のもつクラス I ではない (アロ) 特異性を認識する受容体も数多く発現している。こうした観点から我々はクラス I 発現欠損患者での NK 受

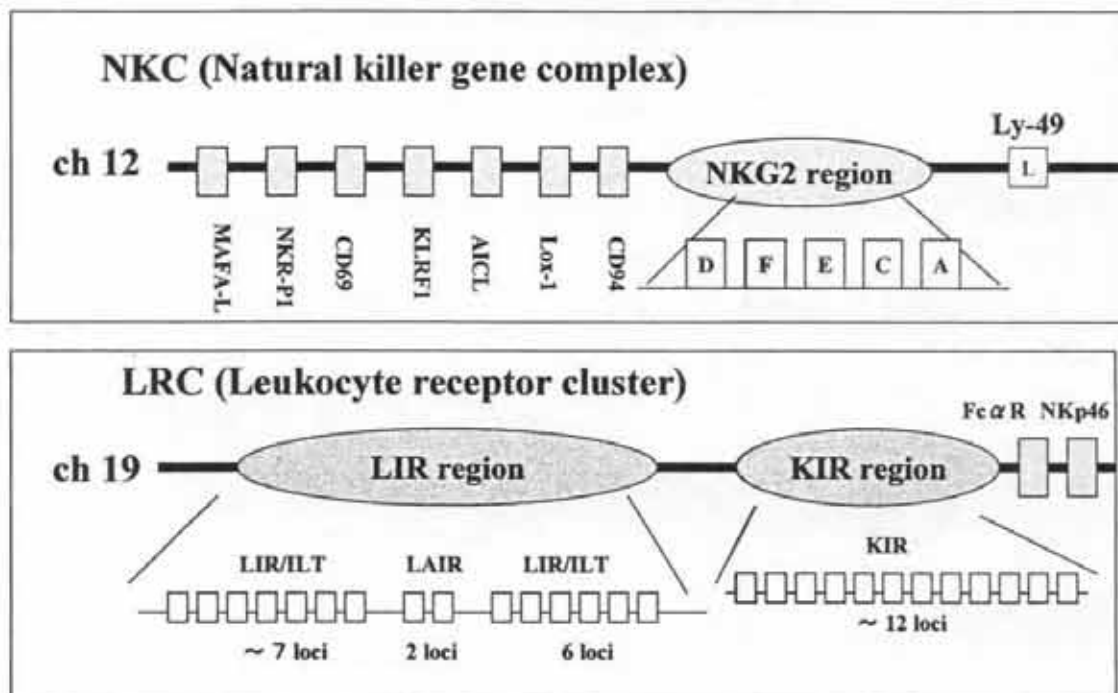
容体発現を解析している。NK 受容体は T 細胞の一部でも発現し T 細胞受容体からのシグナルを増減して T 細胞の活性化制御を行っており、自己トレランス誘導、自己免疫疾患などの観点から注目されている。

5、受容体による NK 細胞機能の調節

NK 細胞がこれら数多くの受容体とリガンドの組み合わせをどのように使い分けてその活性を調節しているのかを考えてみたい。前述のように「抑制性の受容体が標的細胞上にリガンドを認識できない場合に NK 細胞が相手細胞を傷害する」というミッシングセルフが基本であり NK はキラー T 細胞や抗体で排除できない細胞を監視していると思われる。この状況には以下の場合がある。

- 1、クラス I 細胞表面発現が消失あるいは低下した自己の細胞 (がんやウィルスはキラー T 細胞の監視から逃れるために種々の方法でクラス I 発現を低下させている)
- 2、クラス I に結合する自己ペプチドの多くがガンやウィルス抗原ペプチドに置き換わり抑制型受容体が認識できない (NK 受容体のクラス I 認識に結合ペプチドが関与するかは論争中だが)。
- 3、(抑制型受容体が認識できないような) クラス I 特異性が異なる同種異型細胞。これらの場合、標的細胞上にはリガンド抗原分子がありそれらを活性化型受容体が認識しているのだが、抑制性の

図6 NK受容体遺伝子複合体



受容体からのシグナルが優勢なため傷害性は抑えられていることを前提としている。しかし非常に強力な活性化シグナルが入った場合、あるいは抑制を受けないような活性化シグナルが存在すればやはり傷害が起きる。また標的細胞の抗原（ガン細胞での MIC 発現やウィルス抗原など）が過剰発現した場合も同様であろう。活性化型のうち NCR や NKG2D からのシグナルは他より強く抑制性受容体の制御を受けにくいとの報告もある。

次に HLA-A,B が主な拘束分子であるキラーT 細胞の場合とは異なり、HLA-C や非古典的クラス I が NK 受容体のリガンドの中心である理由について考えてみたい。まず抑制性の受容体のリガンドとしては表面発現量が少ない方がその変化を監視し易いが HLA-C は表面発現が低い。NK 受容体は抗体や T 細胞受容体のような遺伝子の体細胞組換えによる多様性増大機構をもたないので一つの受容体で多数のクラス I 特異性を認識できることが好ましいが HLA-C は前述のように保存された 2 箇所のアミノ酸配列により 2 つの特異性に大別できる。(同様の理由で Bw4 や非古典的クラス I 抗原もリガンドとして使われているのかもしれない)。一方 HLA-E は結合するペプチドの殆どがクラス I のシグナルペプチドの一部であり、従って HLA-E 分子の細胞表面発現量は他のクラス I 分子の (表面発現ではなく) タンパク合成量に依存する。古典的クラス I の表面発現あるいは KIR による制御に何らかの問題が起り、NK が自己細胞に過剰反応してしまう場合の安全装置として HLA-E 分子を用いて、トータルなクラス I 発現量を NKG2 が監視しているとも考えられる。また HLA-C,E に規定される T 細胞受容体は限られており NK 受容体との競合も少ないであろう。NK 細胞は全リンパ球の 2 割程を占め、感作不要で活性化しなくてもパーフォリンなどを含む傷害顆粒を細胞質中に豊富に持ち、生体にとってはある意味で大変危険なキラー細胞群なので、異常反応を防ぐために多数の抑制性受容体を発現することにより複数の安全機構を備えているのかもしれない。また T 細胞での抑制性の受容体発現は免疫寛容誘導の 1 手段、あるいは自己反応性 T 細胞の活性抑制としての役割が考えられる。従って腫瘍反応性 T 細胞での抑制性受容体の発現は生体側にとって好ましくない。サイトカイン刺激やアロ抗原刺激による T 細胞での NK 受容体発現の増減が報告されており、腫瘍細胞、感染細胞からの何らかの刺激で受容体活性が調節されている可能性もある。

今回はあまり触れなかったが NK 受容体がクラス I 抗原のアロ特異性を認識することから移植や輸血、妊娠に NK 細胞が関与することが考えられる。マウスの移植実

験におけるハイブリッド抵抗性は NK 細胞が担っており、輸血後 GVHD 発症の一因としてハイブリッド抵抗性による NK 細胞のドナーのキラーT 細胞排除機能が働かないことが考えられる。また国内の非血縁者間骨髄移植の成績では、HLA-C 遺伝子型一致群では III 度以上の急性 GVHD 発症が有意に低い一方で患者の生存率には有意の影響をもたらさないことが判明しており、HLA-C 抗原が GVHD 発症に関与すると同時に GVL の標的抗原となり NK 細胞が GVL のエフェクターとして働いている可能性が考えられる。

終わりに

NK 受容体遺伝子複合体は多遺伝子座、多対立遺伝子という点で MHC との類似点が多いので HLA 研究者の方々の英知に助けて頂き解明を進めて行きたい。従来クラス I 抗原の役割は T 細胞受容体によるキラーT 細胞生体監視の拘束分子として捉えられてきた。しかしながらクラス I 抗原認識受容体がキラー細胞以外でも発現し機能すること (特に APC で発現する LIR など) や、役割が不明だった非古典的クラス I 抗原を認識する NK 受容体が多数発見されてきたことから、クラス I 抗原を別の側面から考えて見ることも今後の課題であろう。

文献

- 1, Annual Review 2000 免疫: NK 受容体に関して 4 編 中外医学社
- 2, 臨床免疫第 34 巻特別増刊号(2000 年): 免疫担当細胞上の細胞表面分子とその機能: NK 受容体に関して 8 編 科学評論社
- 3, Lanier LL. NK cell receptors. Annu Rev Immunol 1998; 16:359-394
- 4, Long EO. Regulation of immune responses through inhibitory receptors. Annu Rev Immunol 1999;17:875-904
- 5, Moretta A et al. Activating receptors and coreceptors involved in human natural killer cell-mediated cytotoxicity. Annu Rev Immunol 2001;19:197-223
- 6, Barten R et al. Divergent and convergent evolution of NK-cell receptors. Trends in Immunol 2001; 22:52-7
- 7, Ljunggren HG et al. In search of the 'missing self': MHC molecules and NK cell recognition. Immunol Today 1990; 11:237-244

ノンクラスカル・クラス I 遺伝子 HLA-E, -F, -G

奈良県立医科大学 法医学教室

石谷 昭子

はじめに

HLA 遺伝子は、第六染色体短腕上の HLA 遺伝子領域に存在している (図1)。この遺伝子は class I と class II に分類され、class I はさらに class Ia (古典的 class I) と呼ばれる HLA-A, -B, -C と class Ib (非古典的 class I) 遺伝子と呼ばれる HLA-E, -F, -G に分類される。class Ib 抗原は class Ia と全く同様に、細胞膜外の $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$ の3つのドメイン、膜貫通領域および細胞質領域よりなり、 $\alpha 3$ ドメインにおいて $\beta 2$ ミクログロブリンと非共有結合により結合して HLA class I の立体構造を保っている。全体として、class Ia と Ib の相同性は class Ia の -A, -B, -C 間における相同性と大きくは変わらない。

これら遺伝子の発現や機能については、HLA-A, -B, -C はかなり解明されており、非常に多型に富み、多くの (全てではないが) 体細胞の細胞表面に発現していることが知られている。またその機能についても、主として内因性抗原を T 細胞に提示する機能、および NK 細胞

の抑制性レセプターに結合し細胞傷害活性を抑制する機能をもっていることが知られている。一方、HLA-E, -F, -G 遺伝子は 1987 年~1990 年に Geraghty らにより HLA class I 領域の gene mapping において発見されたもので、当時、これらは多型性が著しく乏しいこと以外はその発現や機能についてはほとんど知られていなかった。そのため、偽遺伝子等と同一視され、進化の過程で生じた遺伝子の“くず”であるとも言われていた。しかし中でも HLA-G は、その発現が母体と胎児のまさしく接点である胎盤トロホプラストに局限されており、しかも、そのトロホプラストには、いかなる HLA class Ia も class II も発現していない (HLA-C が弱く発現しているという報告もあるが) とされていることから、この多型性の乏しい HLA-G が、母体の免疫学的拒絶から、移植片としての胎児を保護しているのではないかと推測され、この遺伝子に関する研究が集中的になされてきた。一方、HLA-E については、その特異な発現様式が明らかにされて以来、その機能解明に向けて多くの研究がな

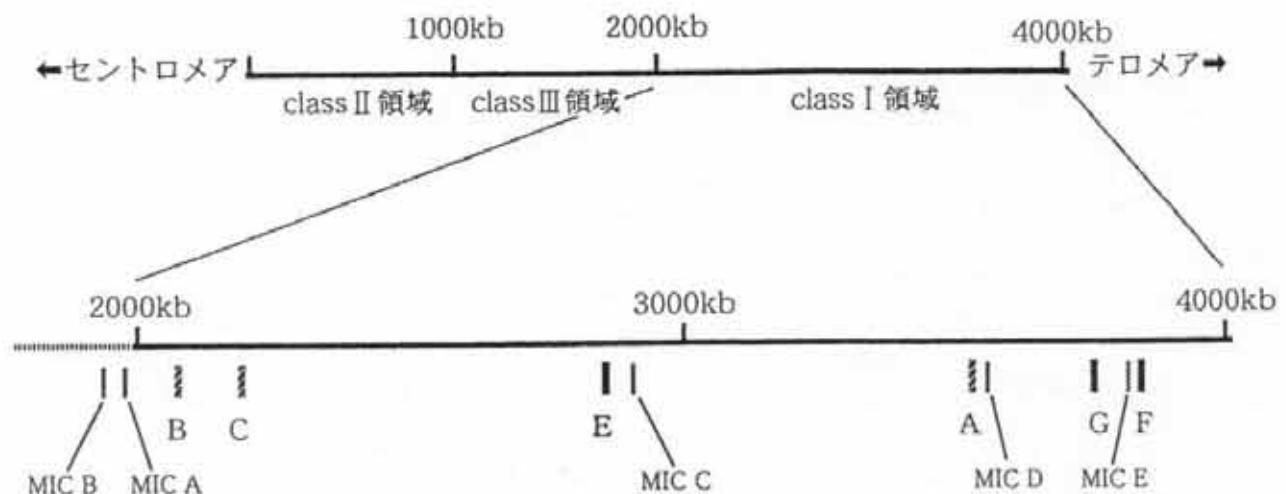


図1、HLA class I 領域の遺伝子

class Ia (A,B,C)遺伝子、class Ib (E,F,G)および HLA class I 様遺伝子(MIC)の位置を示す。

された。しかし HLA-F については、ようやくモノクロナル抗体が作製できたところで、その発現および機能について、いま研究の緒についたところである。

本稿においては、これら HLA class Ib 遺伝子の発現とその機能について最新の知見を紹介しつつ解説したい。

多型性

class Ib 遺伝子の重要な特性としては多型性が非常に乏しいことがあげられる。多型性の有無はその遺伝子の機能と深く関連するものと考えられ、これまで HLA-E および HLA-G 遺伝子の多型性について多くの研究がなされてきたが、検出された多型は著しく乏しいものであった。

HLA-E については、蛋白レベルの多型は、107 番目のアミノ酸 ($\alpha 2$ ドメイン) がアルギニン (Arg) であるアリル (E*0101) と、グリシン (Gly) であるアリル (E*0103) との 2 種類がほとんど全ての人種においてほぼ同率存在するのみである。その他には 83 番 ($\alpha 1$ ドメイン) が Arg から Gly に変異したアリル (E*0102) が報告されたが最近、否定されつつあり、また 157 番 ($\alpha 2$ ドメイン) における多型 (E*0104) も何らかの実験ミスによるものと考えられ、ほぼ否定されている。

HLA-G については、ほとんどの population においては、110 番目 ($\alpha 2$ ドメイン) のアミノ酸がロイシン (Leu) (G*0101) からイソロイシン (Ile) に変異したアリル (G*0104) が人種により約 20~50% 存在しているのみであるが、主としてアフリカ人由来の population においては 130 番のコードン CTG の C が欠損し、frameshift によりこれ以後の蛋白が合成されない null allele (G*0105N) が 5~8% 存在し、Caucasoid において、31 番 ($\alpha 1$ ドメイン) のアミノ酸がスレオニンからセリンに変異したアリルがごくわずかに存在することが報告されている程度である。ところが近年になり van der Ven と Ober が African American において 26 ヶ所に蛋白レベルの変異が存在するという、class Ib 遺伝子の常識をゆるがすような報告を出して我々を驚かせた。しかし我々が African American の DNA について Direct Sequence を行ったところ、他の人種と大差なく、そのような多型性は認められなかったし、他の多くの研究者も van der Ven らの結果を否定した。

すなわち、一般的には、HLA-E は 107 番のアミノ酸が Gly と Arg の 2 種、HLA-G は 110 番が Leu と Ile の 2 種のアリルが存在するのみである。

HLA-F についてはまだあまり多くの報告はみられず、アミノ酸レベルの多型が 2 種類報告されたが、いまだ確

定されていない。

このように class Ib 遺伝子は進化の過程で HLA-A や -B に多くの多型が出現している間、ひたすらこれらほぼ 2 種のアリルのみを保つべく自然淘汰されてきており、このことは、これら遺伝子に多型性を許さない何らかの重要な機能を示唆するものと考えられる。

HLA-E 遺伝子の発現と機能

HLA-E の発現については、class Ia と同様に幅広い組織にその蛋白が発現しており、しかも class Ia とは異なって胎盤トロホプラストにも発現していることが抗 HLA-E モノクロナル抗体を用いた免疫組織染色法により明らかにされている。

HLA-E はその特異な発現様式が明らかにされて以来、急激に注目を浴び始めた。すなわち、他の class I 抗原が全く発現していない細胞においては HLA-E は膜上には発現され得ないのである。HLA class Ia 分子は、細胞内蛋白由来のペプチドをその HLA 分子内に結合し、そのことで分子が安定化し、細胞膜上に輸送され、そこでこのペプチドを T 細胞に提示するという機能を持っている。ところが HLA-E は、細胞内蛋白由来のペプチドはほとんど結合することができず、細胞内の他の HLA class I のシグナル・ペプチド中の 9~11 アミノ酸のペプチドのみを結合し、始めて膜表面に発現できるのである (但し全ての class I ではなく HLA-B の一部等は結合できない)。このような HLA-E の、結合ペプチドに対する強い選択性は結晶解析により得られた HLA-E 蛋白分子のペプチド結合溝の構造ともよく一致する。

a) 抗原提示能について

このような特殊な発現様式やペプチド結合における特性自体が、この HLA の機能を現しているものであろうことは容易に推定される。内在する他の HLA class I 分子を T 細胞あるいは NK 細胞に提示することがこの分子の機能なのではないであろうか。HLA-E 遺伝子のマウスにおけるホモログと考えられる Qa-1 が、マウスの class Ia 遺伝子 H-2D のシグナルペプチドを結合して、アロ反応性 T 細胞にこれを提示することが報告されている。ヒトの HLA-E も同様に、細胞内に存在する HLA-E 以外の HLA のシグナル・ペプチドを T 細胞に提示する機能を持っている可能性も考えられる。しかし、これまで HLA-E が T cell receptor と結合するという報告はされていない。一方、influenza virus および Epstein-Barr virus の 2 種の virus 蛋白を HLA-E が結合するという報告が最近出されたが、HLA-E の抗原提示能についてはいまだ解明されていない。

b) NK 傷害活性抑制能について

HLA-E は、C タイプレクチン・スーパーファミリーに属する NK レセプター、CD94/NKG2A と結合して、NK 傷害活性を抑制することが 1997 年 Geraghty らおよび McMichel らにより明らかにされた。この CD94/NKG2A レセプターは CD94 と NKG2 ファミリーの一つである NKG2A とのヘテロダイマーである。このレセプターのリガンドは、以前は HLA-G を含む幅広い class I 分子であると考えられていた。しかし、これは HLA-E の特異な発現様式が知られていなかったことに起因する重大な誤りを犯していたのである。これらのすべての研究の実験においては、各種 class I を発現させるための細胞として class I 欠損株 721.221 細胞が用いられているが、これには HLA-E 遺伝子は存在しているが、他の class I 分子が全く存在しないため HLA-E 分子は膜上には発現していない。しかし、これに各種 class I 遺伝子を transfect すると、それまで細胞膜上に発現できなかった HLA-E が他の class I 分子のシグナルペプチドを結合して、はじめて膜上に発現してくるため、これらの transfectant は transfect した class I 分子のみならず HLA-E 分子をも常に発現していたのである。そのため、これらの transfect した class I 分子がこのレセプターと結合すると考えられていたが、実際は同時に発現していた HLA-E 分子が結合していたのである。各種抗 HLA 抗体を用いた HLA 分子のブロッキングテスト等により、CD94/NKG2A が認識するリガンドは HLA-E であって、class Ia や HLA-G ではないことが明らかにされたのである。

また HLA-E は NK 傷害活性化レセプター、CD94/NKG2C とも結合することが、1998 年、Geraghty と Lopes-Botet のグループから報告された。この場合は HLA-E の提示するペプチドに違いがある。そのペプチドが

class Ia 由来の場合は、CD94/NKG2A とは強く結合するが、HLA-G 由来のペプチドを提示している場合は CD94/NKG2A とは弱く、CD94/NKG2C とは強く結合するのである（図 2 に模式図を示す）。したがって、HLA-E はいかなるペプチドを提示するかにより、いいかえれば、いかなる HLA 分子と共存するかにより、抑制性あるいは活性化のいずれか、あるいは両機能を持ちうるのである。このことは HLA-E の複雑な機能を示唆するものでろう。

HLA-G 遺伝子の発現と機能

HLA-G 遺伝子が発見されて 3 年後、はじめて胎盤トロホプラストに発現している未知の HLA がこの HLA-G であることが明らかにされて以来、HLA-G の発現について多くの研究がなされてきたが、蛋白として検出されるのは胎盤トロホプラストにほぼ限定されている。し

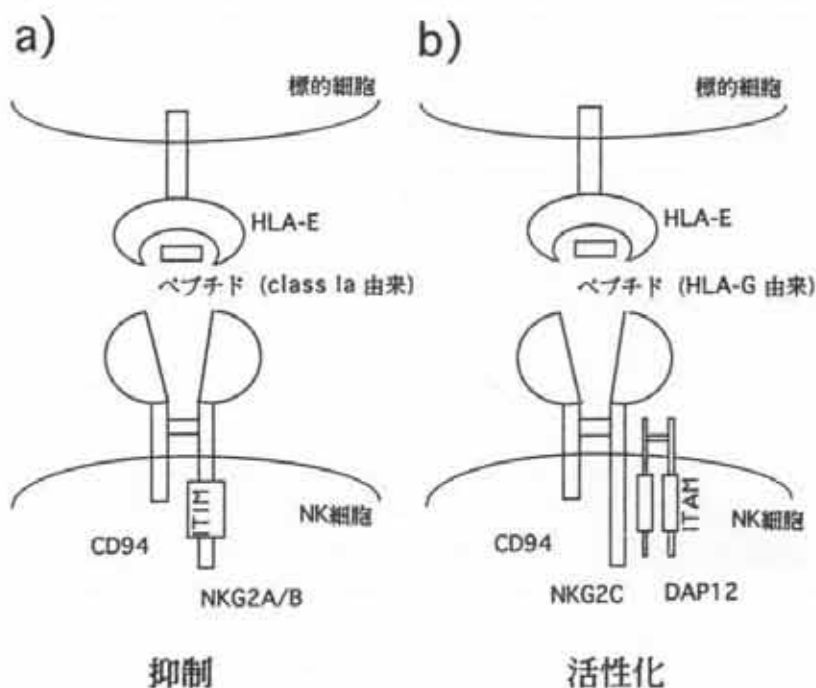


図2. HLA-E と CD94/NKG2 との反応

NKG2A, B および C は CD94 と SS 結合でヘテロダイマーを形成している。

a) HLA-E が class Ia 由来のペプチドを結合している場合は CD94/NKG2A あるいは B と反応し、ITIM を通じて傷害抑制シグナルが出される。

b) HLA-E が HLA-G 由来のペプチドを結合している場合は CD94/NKG2C と反応する。NKG2C は抑制性的 ITIM をもっておらず、DAP12 ホモダイマーと会合して DAP12 の ITAM を通じて傷害活性化シグナルを出す。

かし、近年、Crisa らから胎児や新生児の胸腺上皮細胞に HLA-G が発現しているという報告がなされ、胸腺内で HLA-G に対する T 細胞のセレクションが行われていると推測されている。その他にも胎児の肝臓や血管内皮に発現しているとか、マクロファージ系の株細胞の一つ U937 がサイトカイン刺激により HLA-G を発現するという報告もみられる。しかしこれらの結果については、否定的な報告も多い。また、癌細胞等における発現も報告されている。癌細胞は通常 class I 抗原の発現が低下しているにもかかわらず NK 細胞の攻撃から免れているが、これが HLA-G の発現によるものではないかという推論に基づいている。例えば Paul らは melanoma の組織 23 サンプルについて調べ、そのうち 5 サンプルは高い HLA-G mRNA 量を示し、それらは HLA-G 蛋白も発現していたと報告している。一方、Real らは 50 種の癌組織と 31 種の癌細胞 cell line について調べ、ほとんどの場合に mRNA は RT-PCR で検出されたが、蛋白としての発現は、いずれの場合も検出されなかったと報告している。このことから、癌細胞が HLA-G を発現する

ことにより NK 等の攻撃から免れるというケースはあまりないと考えられ、あってもまれなケースであろうと結論づけている。その他、自己免疫疾患 Graves-Basedow 病患者の甲状腺由来の mRNA から RT-PCR により HLA-G が増幅されたとしているが、この場合も蛋白が検出されていない。このように HLA-G の発現については昨今多くの報告がなされているが、相矛盾する結果が多く、2002 年に開催される第 13 回国際組織適合性ワークショップにおいても検討される予定であり、今後の研究を待たざるを得ない。現時点においてすべての研究において一致することは胎盤トロホプラストにおける発現のみである。

胎盤においては、HLA-G は母体組織に侵入しつつある extravillous trophoblast (EXT) には膜結合性 HLA-G 抗原が非常に強く発現されており、絨毛の最外部にあり、絨毛間腔の母体血に接している syncytiotrophoblast (ST)、そのすぐ内側にある villous cytotrophoblast (CT) には可溶性抗原が発現されている。さらに絨毛間腔の母体血中にも可溶性抗原が検出されている。この局在性は

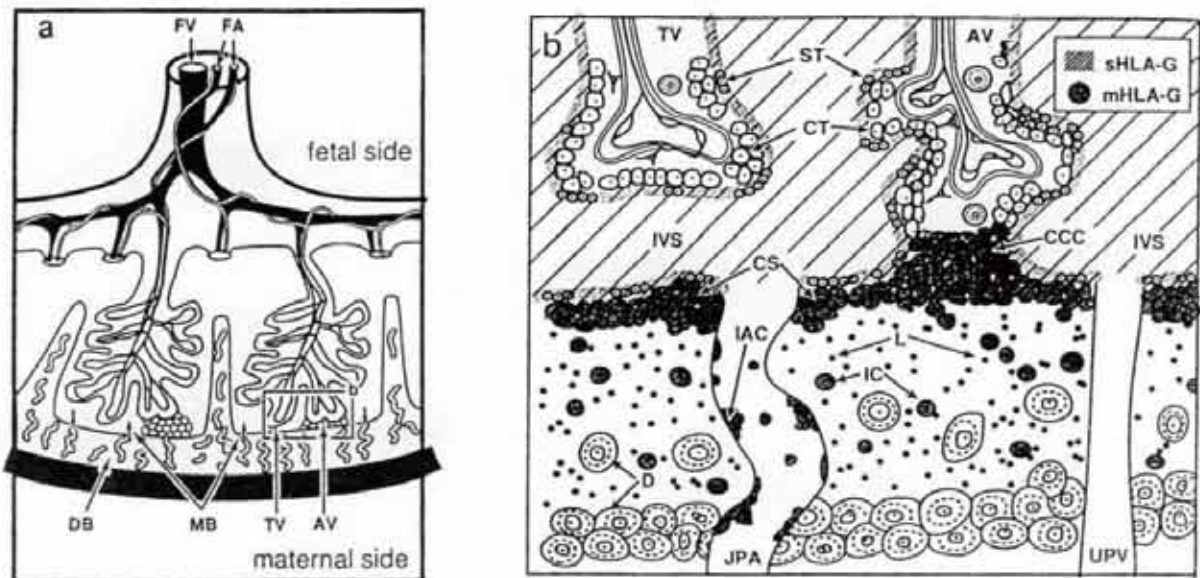


図3、胎盤における膜結合性および可溶性 HLA-G の発現に関する模式図

a) 胎盤断面の模型図、b) a) の口部拡大図、膜結合性 mHLA-G は extCT (CCC、CS、IC、IAC) (灰色部位)、可溶性抗原 sHLA-G は vilCT、ST、IVS (斜線部位) および extCT に発現。

FV: 胎児静脈、FA: 胎児動脈、DB: 基底脱落膜、TV: 自由絨毛、AV: 固定絨毛、MB: 母体血流、IVS: 絨毛間腔、ST: syncytiotrophoblast、CT: cytotrophoblast、CCC: cytotrophoblast cell column、CS: cytotrophoblastic shell、D: 脱落膜細胞、IC: interstitial cytotrophoblast、IAC: intra-arterial cytotrophoblast

いずれの妊娠ステージにおいても同様の傾向を示したが、初期において最も強く発現していた。このように、母体の免疫細胞と接するすべてのトロホプラスト上に多型性の乏しいHLA-Gが発現し、それらの細胞から“非自己”と認識されないように保護していると考えられる(図3)。

また我々は、HLA-Gは選択的スプライシングにより、可溶性HLA-Gおよび3種のisoformのmRNAを産生することを明らかにした。これらについては、 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$ 、膜貫通領域および細胞質領域の全ドメインをもつものをHLA-G1、 $\alpha 2$ ドメインを欠くものをG2、 $\alpha 2\alpha 3$ ドメインを欠くものをG3と命名した。これらの分子はすべて、RNase Protection法により胎盤組織内に有意の量が存在することが明らかになり、それぞれに、何らかの機能を持っているものと推測される。我々は、G1はclass I抗原としての機能を果たし、またG2はそのドメイン構造の類似から2分子でhomodimerを形成してclass II分子と類似した構造をとっている可能性があるかと推測している(図4)。このように、HLA-Gは選択的ス

プライシングによりclass I、class IIおよび可溶性抗原等の分子を作り出し、トロホプラスト上のMHCの役割をひとりで多役を果たしているように見える。

a) 抗原提示能について

HLA-Gが抗原提示を行っているかどうかについての直接的証明はいまだみあたらない。しかし、これを支持するような結果はいくらか報告はされている。まずこの分子が内因性抗原のペプチドと結合するかどうかについて、我々がHLA-G遺伝子を導入した細胞を用いて調べたところ、その結合ペプチドはclass Iaと同様に、細胞質内蛋白由来のペプチドで、しかもHLA-Gの発現もTAP依存性であった。またHLA-Gトランスジェニックマウスを用いた実験においてHoruszkoらおよびSchmidtらが、HLA-GがMHC拘束分子として機能し、細胞傷害性T細胞(CTL)の反応を惹起することを示している。その他間接的データであるが、CD8はHLA-Gを認識して結合することができるというデータとか、新世界猿のわたぼうしタマリンのMHCはHLA-Gのホモログで、T細胞に抗原提示しているという報告があり、

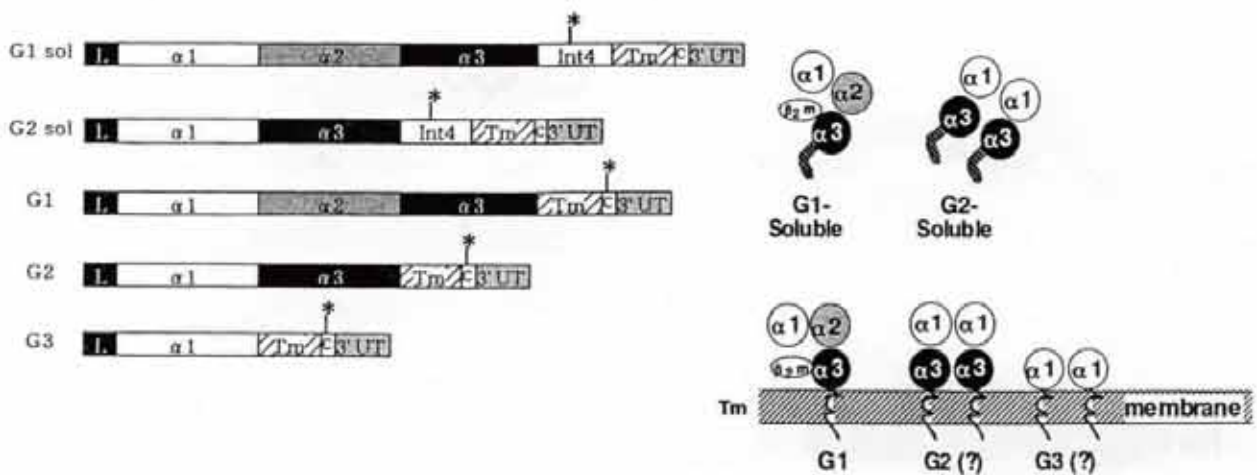


図4、選択的スプライシングにより産生されるHLA-Gの5種のmRNAと、それらの蛋白の推定される立体構造

HLA-G遺伝子は細胞質領域に終止コドンが存在するため、コードされる蛋白は他のclass I蛋白より短い。G1は全exonをもっている分子で、G2、G3はそれぞれ $\alpha 2$ ドメイン、 $\alpha 2$ と $\alpha 3$ ドメインがスプライシングにより除去された分子を示す。G1sol、G2solはG1、G2に相当する可溶性分子を示す。第4イントロン(Int4)がスプライシングにより除去されず、そこに存在する終止コドンにより、それ以後の膜貫通領域や細胞質領域が翻訳されないために、可溶性となったもの。左図はmRNAを、右図はそれらの蛋白の推定される構造を示す。G2蛋白は2分子でhomodimerを形成している可能性が考えられる。

* 印はストップコドンの位置を示す

HLA-G に抗原提示能があるようにも考えられる。しかし、我々が *in vivo* の HLA-G の結合ペプチドを調べたところ、全く異なった結果を得た。すなわち、胎盤より HLA-G を抽出し、その結合ペプチドを調べたところ、培養細胞の場合と著しく異なって、cytokine receptor のシグナルペプチド様のほぼ 1 種類のペプチドで占められていたのである。この結果からは HLA-G が抗原提示の機能を果たしているとは考えにくく、HLA-G の抗原提示能についてはさらなる検討が必要であろう。

b) NK 傷害活性抑制能について

HLA-G の NK 傷害活性抑制能に関する研究は HLA-E よりかなり前からなされたにもかかわらず、互いに矛盾した数多くの報告がなされてきたが、1997 年には、HLA-G をリガンドとする NK レセプターは、CD94 / NKG2 レセプターであるという報告が数多く出され、コンセンサスとして受け入れられた。

ところが、これらの研究はすべて、HLA-E の項で述べたように、NK の標的細胞として 221 細胞に HLA-G 遺伝子を導入した 221-G 細胞を用いたために起こった過ちであった。したがって、CD94 / NKG2 レセプターは HLA-E と結合するのであって、HLA-G ではなかったのである。1997 年、Colonna らにより HLA-G は Immunoglobulin-like Transcript 2 (ILT2) および ILT4 NK レセプターと結合し、NK 活性を抑制することが報告された。一方、1998 年、Cantoni らにより Killer Cell Immunoglobulin-like Receptor (KIR)2DL4 が HLA-G と結合することが報告され、さらに 1999 年 Rajagopalan と Long によりこの KIR2DL4 は全ての NK 細胞に発現し、HLA-G にのみ特異的に結合し、他の class I 分子とは反応しないと報告された。ところが、この報告と同じ雑誌に同時に、Allan DSJ らはそれと反対の結果、HLA-G が結合するのは ILT2 および ILT4 であって、いかなる KIR や CD94/NKG2 とも結合しないという結果を報告している。彼らは、蛍光色素ラベルした HLA-G の 4 量体を作製し、これを用いて末梢血単核球との結合を検出し、抗 ILT 抗体を用いてその結合が ILT2 および ILT4 とのものであることを証明している（但し class I 分子の 4 量体は NK 細胞との結合を検出するために開発された方法である）。一方、Rajagopalan と Long は、可溶性 KIR2DL4 が HLA-G を発現している細胞に結合すること、および KIR2DL4 遺伝子を導入した NK 細胞は HLA-G を発現している細胞のみ傷害せず、他の標的細胞は全て傷害したという結果を示している。

現時点では、HLA-G は NK 傷害活性抑制能を有していると考えられており、結合するレセプターは、ほぼ

ILT2、ILT4 および KIR 2DL4 と考えられている。

c) サイトカインとの相互作用

HLA-G の発現が、サイトカインの分泌を誘導するという報告が出はじめている。Maejima らは、末梢血単核球を HLA-G を発現している 221-G 細胞および HLA-G を発現していない 221 細胞と共培養し、単核球からのサイトカインの分泌量を測定し、221-G の場合は、妊娠維持に働くと考えられている IL-3 と IL-1 β の分泌量が増加し、流産の方向に働く TNF- α は低下したと報告している。我々も母体の末梢血単核球のみならず脱着膜中単核球に対する HLA-G の影響を調べ、IL4、IL10、INF γ 、TNF α の各種濃度が妊娠維持に有利な TH2 型へ移行することを見出している。このことから、HLA-G は妊娠維持に有利に働くサイトカインの分泌を促進し、不利なものを減少させると推測されるがいまだ詳細には解明されていない。

HLA-F 遺伝子の発現と機能

HLA-F に対するモノクローナル抗体が最近作製されたところであって、まだあまり報告もない。我々が各種組織由来の株細胞を用いてその発現を調べたところ、細胞の種類によって、細胞質内に HLA-F 蛋白を産生しているものがあつたが、細胞表面に発現しているものは全く見当たらなかった。しかし、胎盤を免疫染色法で調べたところ、トロホプラストや脱着膜細胞の細胞質部分には弱く染色されるのであるが、脱着膜中に深く侵入しているトロホプラストのみにおいて、その表面部分に強い発現がみられた。実際に、それらの細胞の表面に HLA-F 蛋白が発現しているかどうかはさらなる検証が必要であるが、それが証明されれば、HLA-F もまた、妊娠の維持に何らかの重要な機能を果たしているものと考えられる。一方、Lepin らは HLA-F 蛋白のテトラマーを用いて抗体を作製し、これにより、HLA-F が胸腺、扁桃腺、脾臓等に発現していると報告している。さらにこの HLA-F テトラマーは ILT2 や ILT4 と結合しうることから、HLA-F が細胞膜表面に発現されるならば、これらの NK レセプターと反応して NK 抑制を行うと推定している。しかし、HLA-F がいかなるペプチドを結合するかも不明であり、どの様な時に HLA-F が細胞膜表面に発現されるのか等、まだほとんど解明されていない。

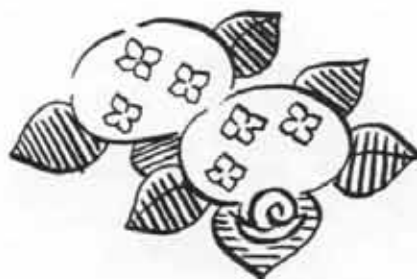
HLA-E と HLA-G の胎盤における相互作用

HLA-G が母児の接点、胎盤トロホプラストに発現していることが知られて以来、HLA-G のみが母体の免疫細胞のアロ反応から胎児組織のトロホプラストを保護し

ていると考えられてきた。しかし、その後 HLA-E も同時に発現していることが明らかになり、この2種の class Ib 分子の共同作業により、妊娠維持に働いているのではないかと考えられ始めている。

Ober らが HLA-G の null 遺伝子 HLA-G*0105N 遺伝子をホモで持っている成人女性1例を報告しているが、このことは、HLA-G は妊娠の維持に必須ではないのかという疑問を引き起こす。この場合、全てのドメインを持つ HLA-G は全く産生されないが、G2、G3 の isoform は産生される。Ober は、G1 がなくても、G2 isoform の分子が、HLA-G として機能しているのではないかと推測している。しかし、 $\alpha 2$ ドメインの無い G2 isoform が class Ib 分子として働きうるのかは、疑問がある。それよりはむしろ、HLA-G のシグナルペプチドは産生されるため、これを結合した HLA-E が class I としての機能を全て行うのかも知れない。すなわち、HLA-G の役割は、HLA-E にペプチドを提供することにあるとも考えられる。しかしこの事例において、その同胞のうち3名は流産で出産されていないことから、null 遺伝子のホモとして無事出産されたのは、HLA-E や-C による代替機能が特にうまく働いた幸運な1例であったかもしれない。また、最近 HLA-G の allele と習慣性流産との関連を検討し、他の遺伝子型とは相関がみられなかったが、null 遺伝子とは有意の相関があったという報告がなされ、HLA-G 分子が産生されないか、あるいは産生量が少ないことは妊娠維持に不利に働くということを示唆している。

胎盤においては HLA-E、-F、-G すべての class Ib が発現している。HLA-F に関してはまだ不明であるが、HLA-E と-G は強い相互作用を持っているようである。HLA-E は CD94/NKG2 のリガンドとなるが、その分子内に結合するペプチドにより、NK 傷害を抑制したり活性化したりする。class Ia 由来ペプチドの場合は抑制をし、HLA-G 由来ペプチドの場合のみは、抑制性より活性化レセプターに親和性を示す。HLA-G は胎盤において自ら NK 活性の抑制を行うとともに、HLA-E にペプチドを提供し、この機能を制御する、という少なくとも2つの役割をはたしていると考えられる。また、弱く発現しているといわれている HLA-C も HLA-E にペプチドを提供するためのものかもしれない。今後、HLA-F をも含めてこれら class Ib 分子の機能解明が待たれる。



MHC 遺伝子と進化

—MHC 遺伝子からみた現生人類の起源と進化 (2)—

東京大学医学部人類遺伝学教室 大橋 順

前回は、現生人類の起源と進化について、ヒト集団全体を対象として大きな視点から解説しました。連載最終回となる今回は、我々が行ってきた研究を中心に、HLA 遺伝子からみた集団間の近縁性や、遺伝的に近縁な集団間で共通に観察される HLA ハプロタイプについて概説したいと思います。多型的な HLA 遺伝子は、集団を区別するための遺伝マーカーとして非常に有用な遺伝子でもあるのです。

HLA 多型の地理的な分布が自然淘汰の影響をさほど受けなければ、その多型性から、HLA 遺伝子は人類集団の移住や拡散、集団間の遺伝的近縁性を議論するための有用な遺伝マーカーであるといえます。複数の集団の HLA 対立遺伝子頻度を解析し、対立遺伝子頻度の頻度分布が似ている集団が見つければ、それらの集団は遺伝的に近縁であると結論できるからです。集団間で対立遺伝子頻度分布を比較する際には、対立遺伝子頻度分布から集団間の遺伝距離を計算し、それをもとに系統樹を描くという方法が一般的です。しかし、遺伝距離の計算では、ある対立遺伝子を同じ程度に高頻度に共有する集団間の遺伝距離は小さくなりますが、頻度の低い対立遺伝子を複数共有していても、集団間の遺伝距離は大きな影響を受けません。そのため、そのような方法では「稀な対立遺伝子の集団間での共有」について考慮することが難しくなります。後に示す対応分析やそれと類似の主成分分析は、そのような点も考慮できるため、多型的な遺伝子の頻度データから集団間の遺伝的近縁性を論じる研究ではよく利用される手法です。我々のグループでは、遺伝距離に基づく系統樹の作成と対応分析（または主成分分析）を併用し、人類進化の研究を行なっています。

図 1 は、HLA-A、HLA-B、HLA-DRB1 の三つの遺伝子座の対立遺伝子頻度データから得られた対応分析の結果を示しています。対応分析を行うと、似た対立遺伝子頻度分布を持つ集団は、各軸（1st Dimension と 2nd Dimension）において近い値をとるので、図上で近い場所に位置することになります。図 1 において、アフリカ集団、ヨーロッパ集団、東北および東南アジア集団、オセアニア集団、アメリカ先住民の各グループが明確に区別されており、HLA 対立遺伝子の頻度分布は、遺伝的な近縁性と密接に関連していることが理解できると思います。図 1 において、本土日本人と韓国人とは近接して並んでいます。これは、弥生時代に朝鮮半島経由で日本

列島へ移住した人々の子孫が現代本土日本人の主体であることを反映していると思われます。また、沖縄人と本土日本人との関係よりも、アイヌ人と本土日本人との関係は遺伝的により離れています。なお、同じデータに基づき系統樹を作成した場合も、同じ関係が得られます。HLA 以外の 25 のタンパク多型マーカーを解析した先行研究においても、系統樹分析から同様の結果が得られており、HLA 遺伝子を遺伝マーカーとして用いたために、系統樹分析や対応分析において、「淘汰によってひずんだと思われる結果」は出てきません。図 1 において特に興味深い点として、日本列島に古くから住んでいたと考えられるアイヌ人とアメリカ先住民とが比較的近いことが挙げられます。このことから、2~3 万年前にアメリカ大陸に渡ったアメリカ先住民の先祖と、アイヌ人の先祖が遺伝的に近縁であった可能性が考えられます。

個々の集団の HLA 対立遺伝子の種類数に注目すると、南アメリカ先住民やオーストラリア先住民では、観察される対立遺伝子の種類が少ないことに気がつきます。これらの集団と他の集団との遺伝距離も大きいことから、アメリカ大陸やオーストラリア大陸に渡った彼らの先祖は比較的少人数であり、その後も孤立して進化を続けてきたと推測されます。多型性に富む HLA 遺伝子から、我々は多くの知見を得ることができるのです。

HLA 遺伝子群が遺伝マーカーとして大変優れているもう一つの理由は、HLA 遺伝子群は 6 番染色体上で非常に密に連鎖しているため、HLA 遺伝子の特定の型のセット（HLA ハプロタイプと呼ばれる、図 2 参照）が、親から子へと受け継がれる点です。可能な HLA ハプロタイプの組み合わせは、ハプロタイプを構成する各遺伝子座での対立遺伝子数の掛け算になることから理解できるように、HLA ハプロタイプのレベルでは、遺伝的多型性の程度は飛躍的に増大します。前述の対立遺伝子の場合と異なり、HLA ハプロタイプは遺伝子座間の組換

えにより二次的に作り出される可能性が高いですが、それでもある複雑なHLAハプロタイプが、複数回にわたり独立に作り出され、頻度を増す可能性は低く、そのほとんどが単一起源に由来すると思われます。したがって、同一のハプロタイプが異なる集団で見つかったとき、これらの集団は少なくとも一部で先祖集団を共有すると考えられ、各遺伝子座単位でみるより詳細な情報を得ることができるのです。

HLAハプロタイプの中には、ランダムな組み合わせから期待されるよりずっと高い頻度で観察される特徴的なものがあります(連鎖不平衡が存在する)。このよう

な連鎖不平衡は、超優性淘汰や機会的遺伝浮動によっても生じますが、遺伝子座間が連鎖平衡状態にある2つの集団が混合した場合にも容易に生じ得えます。ここで、その過程を簡単にモデル化してみましょう。二つの連鎖した遺伝子座AとBに、それぞれ二つの対立遺伝子 a_1 と a_2 、 b_1 と b_2 が存在するとします。また、 a_1 と a_2 の頻度を x 、 $1-x$ とし、 b_1 と b_2 の頻度を y 、 $1-y$ とします。各ハプロタイプ a_1b_1 、 a_1b_2 、 a_2b_1 、 a_2b_2 の頻度を X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 とすると、 $X_1=xy+D$ 、 $X_2=x(1-y)-D$ 、 $X_3=(1-x)y-D$ 、 $X_4=(1-x)(1-y)+D$ が成立します。ここで、 D は連鎖不平衡と呼ばれる変数であり、 $D=X_1X_4-X_2X_3$ の関

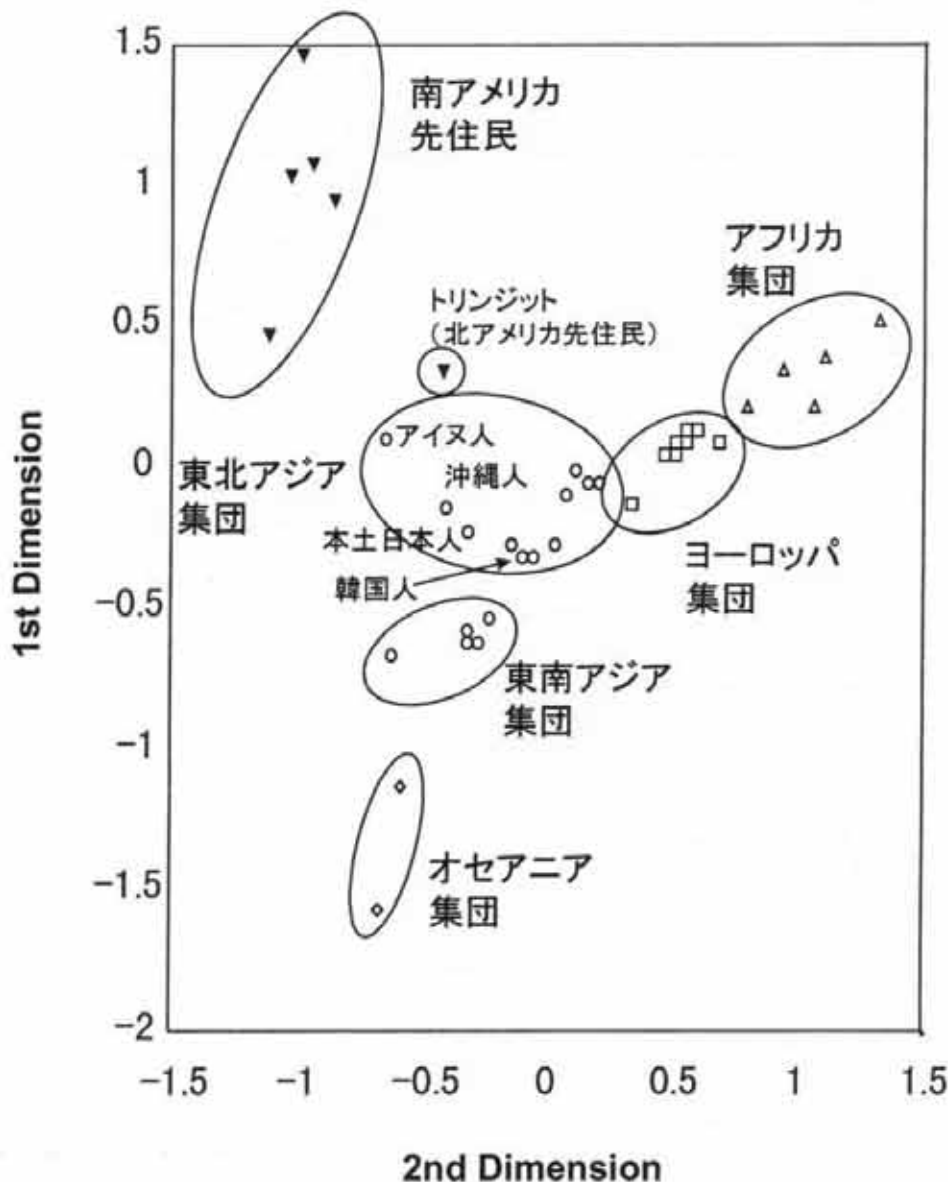


図1 HLA-A、-B、-DRB1 遺伝子座の対立遺伝子頻度をもとにした対応分析の結果

係式を満たします。D≠0 のとき、二つの遺伝子座が連鎖平衡状態にあるといい、D=0 のとき、二つの遺伝子座が連鎖平衡状態にあるといいます。D=0 のとき、ハプロタイプの頻度は対立遺伝子頻度の積で与えられることとなります。いま、ともに連鎖平衡状態にある集団1と集団2が m:1-m (0<m<1)の割合で混合して新たな集団が誕生したと仮定します。新たな集団中のハプロタイプ a₁b₁ の頻度は、mx⁽¹⁾y⁽¹⁾+(1-m)x⁽²⁾y⁽²⁾ となります。ここで、元の集団は上付きの 0 で示してあります。新集団中の a₁ と b₁ の頻度はそれぞれ mx⁽¹⁾+(1-m)x⁽²⁾ と my⁽¹⁾+(1-m)y⁽²⁾ で与えられるので、新集団中の連鎖不平衡 D' は

$$D' = mx^{(1)}y^{(1)} + (1-m)x^{(2)}y^{(2)} - [mx^{(1)} + (1-m)x^{(2)}][my^{(1)} + (1-m)y^{(2)}]$$

$$= -m^2(x^{(1)}y^{(1)} - x^{(1)}y^{(2)} - x^{(2)}y^{(1)} + x^{(2)}y^{(2)})$$

$$+ m(x^{(1)}y^{(1)} - x^{(1)}y^{(2)} - x^{(2)}y^{(1)} + x^{(2)}y^{(2)})$$

$$= m(1-m)(x^{(1)}y^{(1)} - x^{(1)}y^{(2)} - x^{(2)}y^{(1)} + x^{(2)}y^{(2)})$$

で表されます。この式より、特別な場合を除けば D' ≠ 0 であり、集団の混合によって連鎖不平衡が生じることが理解できると思います。HLA 遺伝子群を調べると、各集団に特徴的なハプロタイプを見出すことができます。一つの集団が二つに分かれ、その後ハプロタイプを共有しつつも、遺伝的に交流の無かった集団同士が再び混合することによって、頻度が高く、強い連鎖不平衡を示す HLA ハプロタイプが誕生するのかもしれない。

特徴的な HLA ハプロタイプの頻度分布から比較的最近

（過去数千年）のヒトの移住の歴史を探ることができます。たとえば図3は、ヨーロッパ人に典型的なハプロタイプ、HLA-B8-BFS-C4AQ0-C4B1-DR3 の世界における分布を示しています。南北アメリカ、南アフリカ、オーストラリアへの分布はすべて最近数百年に起こったヨーロッパ人の移住の結果と考えられます。興味深いことに、このハプロタイプこそ、約 9000 年前より数千年間にわたって中近東からヨーロッパにかけて農耕文化をもたらした人びとが高頻度にもっていたハプロタイプと推定されています。一方、図4からは、ハプロタイプ HLA-B58-BFS-C4A3-C4BQ0-DR3 は東南アジアと南中国に分布の中心が存在し、アフリカ、ヨーロッパ、アメリカ大陸にはほとんど存在していないことがわかります。このように、HLA ハプロタイプには特定の集団や特定の地域に限定された分布パターンを示すといった特徴があることを利用すると、より詳細に人類集団の近縁性や形成過程の問題を論ずることができます。ハプロタイプの共有に基づく考察から、我々のグループでは、中国南部から沖縄を経由して本土日本に到達したグループが存在する可能性を示唆し、また、アイヌ人とアメリカ先住民とのハプロタイプレベルでの遺伝的な近縁性を指摘しています。

4 回に渡り MHC 遺伝子と進化について解説してきました。MHC 遺伝子とそれが存在する MHC 領域には、分子進化的に非常に興味深い現象が観察されます。

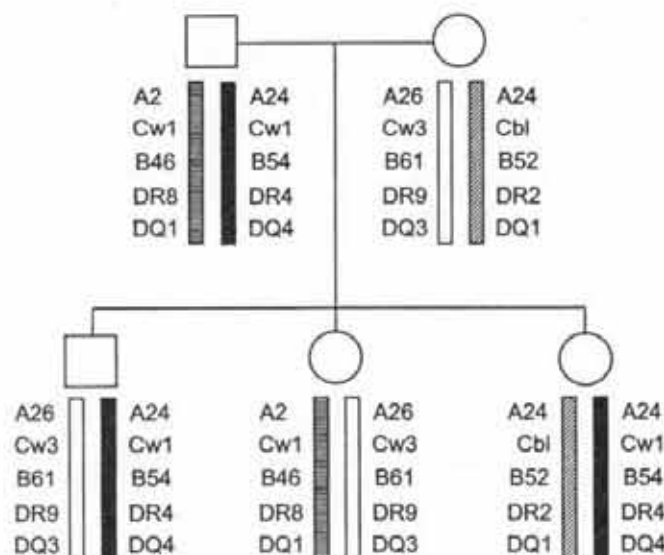


図2 HLA の各遺伝子型がセット(ハプロタイプ)を組んで、親から子へ伝わる。それぞれの子どもは両親より一組ずつハプロタイプを受け取る。

MHC 領域に位置する全ての遺伝子は、直接的あるいは間接的に正の自然淘汰の影響を受けています。MHC 遺伝子の研究が進むことで、分子進化における正の自然淘汰の役割が徐々に明らかとなるでしょう。また、人類集

団の起源や進化に関しては、MHC 遺伝子だけではなく、mtDNA や Y 染色体のハプロタイプ解析も盛んに行なわれています。多数の集団の解析が進めば、いずれは現生人類の起源や進化についても明らかとなるでしょう。

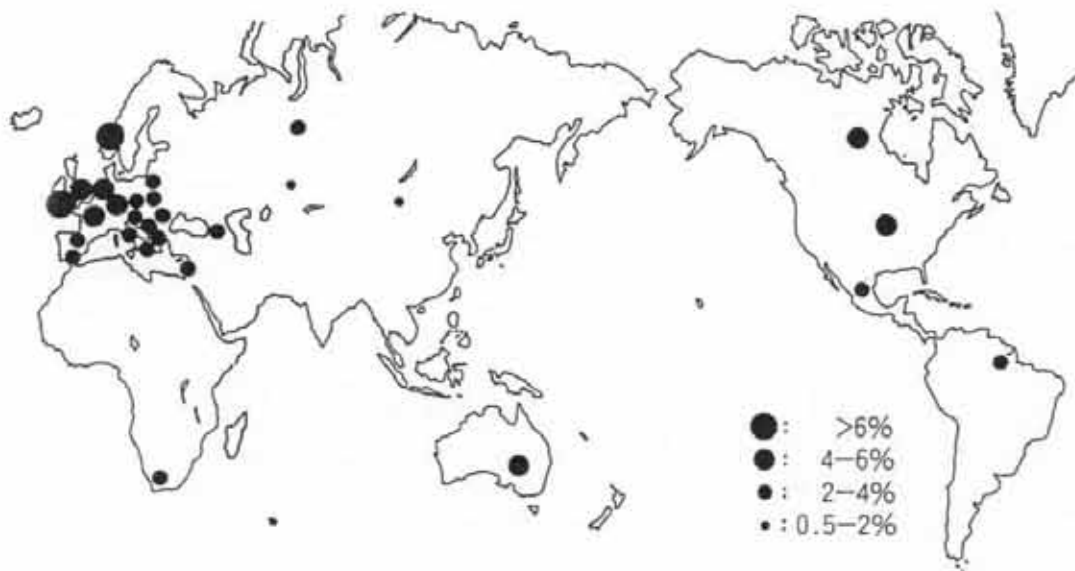


図3 コーカソイド集団に特徴的なハプロタイプHLA-B8-BFS-C4A0-C4B1-DR3分布

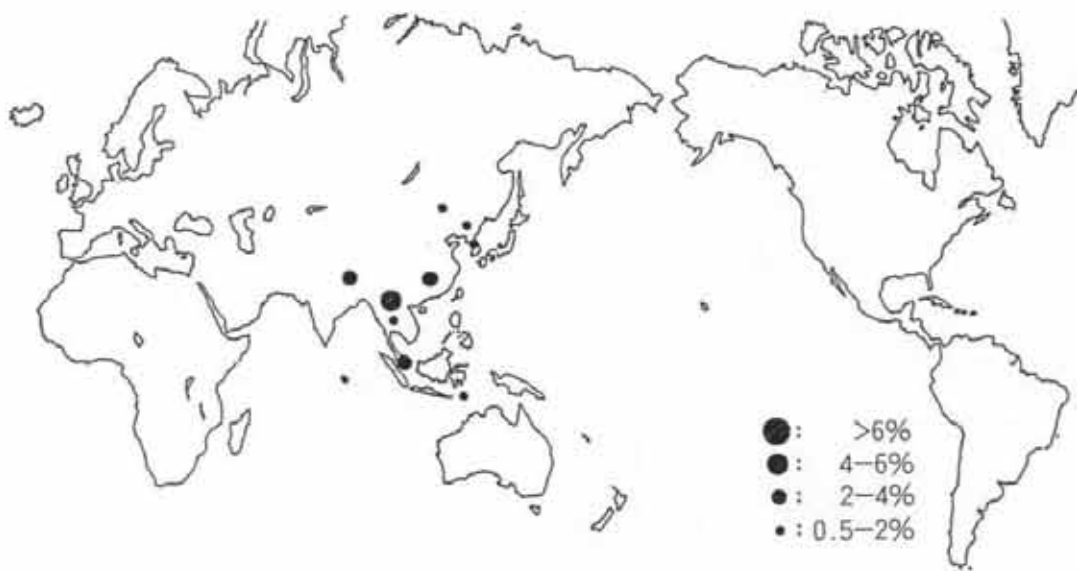


図4 東南アジアに多く観察されるハプロタイプHLA-B58-BFS-C4A3-C4BQ0-DR3の分布

今回は、哺乳類の初期発生、ある種の先天奇形症候群、変異遺伝子の親由来依存性重症度を示す遺伝子病、或いは発ガン機構として注目されているゲノムインプリンティング (genome imprinting ; ゲノム刷り込み現象) について説明しようと思います。

ヒトをはじめとする哺乳類では、両親から由来する一対のアリルの性格、及びその発現は“等価”だとするのはメンデル遺伝学の基本原理の一つです。しかし、ゲノムインプリンティングは、このメンデルの原則に従いません。そのような現象であるゲノムインプリンティングとはどのようなもののでしょうか？簡単に言えば、インプリンティングとは、父・母由来のアリルが区別されて、

子供における各アリルの発現程度が由来する親の性別に依存する現象です。言い換えれば子供の中において父親と母親の遺伝子が区別されているということです。さらに驚くべきことは、ゲノムインプリンティングの特徴はDNAの一次配列を変えることなく、DNA上につけられた何らかの目印を使って遺伝子発現の制御を行い、父親、母親に由来するゲノム機構に差を与えているという事です。父親由来アリル (又は染色体領域) と母親由来アリルは、受精以前に遺伝外修飾 (epigenetic modification) を受け刻印 (imprint) され子供に伝達されます。その結果、子のゲノムにおいて両親のアリルが区別されて発現することになります。しかし、親由来のアリルの区別

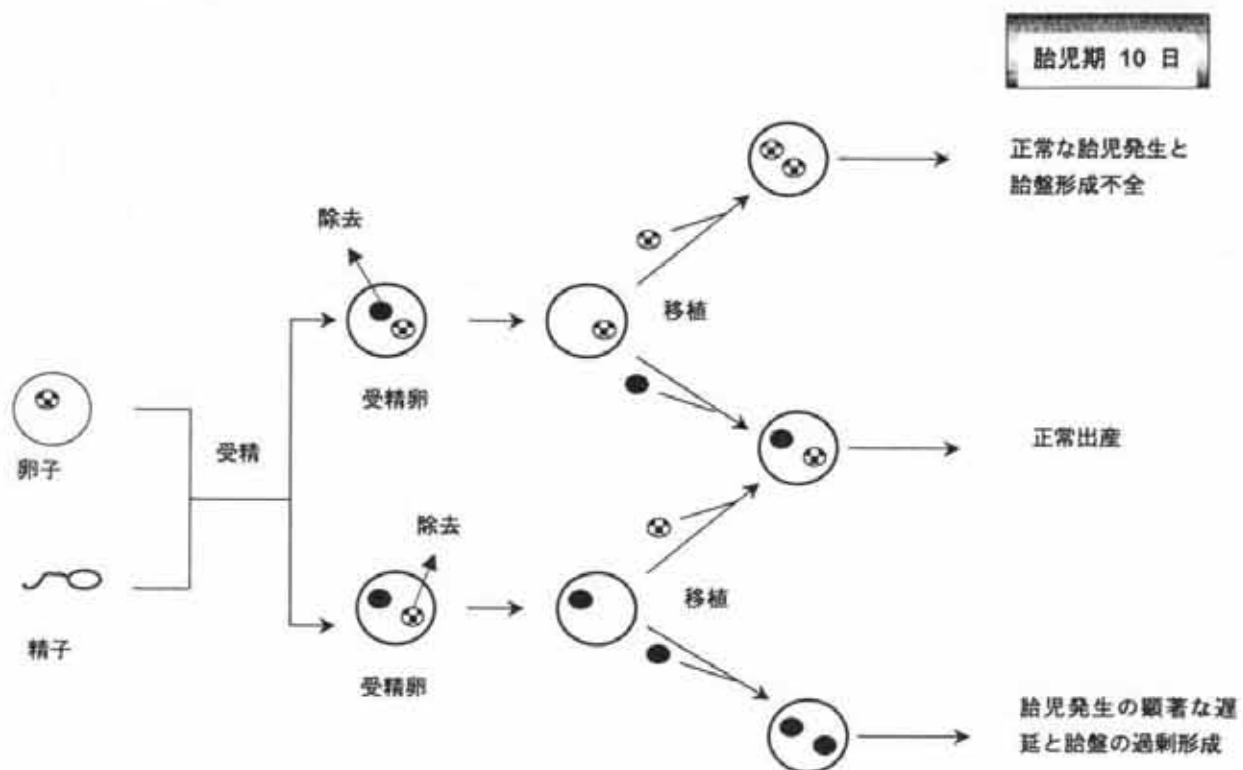


図-1 マウス受精卵を用いた前核移植実験

は一世代（子供の体細胞のみ）限りで、恒久的なものではありません。つまり、次世代ではインプリンティングは消去され、新たなインプリンティングが行われるわけです。これが DNA 配列の変化を伴った遺伝子変異とは異なり、遺伝的（genetic）と言う言葉に対して遺伝子外的（epigenetic）と呼ばれる理由はここにあります。インプリンティングされた遺伝子は刷り込み遺伝子（imprinting gene）と呼ばれ、一般には、インプリンティングされたアリルは発現が抑制されます。父親由来のアリルの不活性を父性刷り込み（paternal imprinting）、母性アリルのそれを母性刷り込み（maternal imprinting）といいます。

では、このゲノムインプリンティングはどのようにして発見されたのでしょうか？ ゲノムインプリンティングが発見された経緯は、単為発生が哺乳類でも可能かどうかを試されたことに始まります。1984 年に行われたマウスを使った単為発生の実験は、図-1 に示すような前核移植という手法が用いられました。受精直後の受精卵（この段階では、精子に由来する雄性前核と卵子に由来する雌性前核は融合していません）から、前核の除去と移植を行うことができます。MaGrath 等は、卵子由来の前核を二つもつ雌性単為発生胚と精子由来の前核を二つもつ雄性単為発生胚を作製することを何度も繰り返しましたが、子供は生まれてきませんでした。どちらの発

生胚も胎児期 10 日目までに致死となりました。一方、雌性単為発生胚では、形態的には異なっていて、胎児は発生しているにもかかわらず（一見正常に発生は進みます）、胎盤が形成されていないことがわかりました。また、雄性単為発生胚は、逆に胎盤ばかり発達して胎児の発育が著しく遅れることが明らかになりました。このことは、哺乳類において、父親、母親由来のゲノムが個体発生において機能的に異なる役割を果たしていることを意味しています。また、同様の結論が、1985 年に報告された遺伝学的実験からも得られています。それは、どのような実験かと言いますと片親性ダイソミー（uniparental disomy ; UPD）の実験からでした。子供の一对の染色体が両方とも片親から由来する現象を UPD と言います。母親由来の母性 UPD と父親由来の父性 UPD が存在します。染色体の転座をもつマウスの交配によってある領域に関して一对の相同染色体の部分的 UPD を作製することができます。これら個体は野生型個体とゲノム量に関しては差は無いので表現型は同じはずですがいくつかの染色体領域では相補則があてはまりません。例えば、マウスの第 11 番染色体や第 7 番染色体のある部分では母性 UPD 個体は成長障害が、父性 UPD 個体は過剰成長がそれぞれ生じました。種々の部分の UPD を作製することにより胎児死亡、成長障害、行動異常などの表現型が観察されました。マウスでは現在少なくとも雌雄由来の差を生じる染色体領域が 10 ヶ所あることが報告さ

れています。ヒトでは UPD は 16 種類の染色体で発見され、その内異常な表現型を示してゲノムインプリンティング効果が確認或いは推定されるのは 9 種類です。マウスとヒトのインプリンティングされている領域を比較するとそれぞれ相同性のある部分があるので、インプリンティング領域の DNA の一部は哺乳類の進化の中で保存されているのかもしれませんが、現在までにインプリンティングが報告されているヒトの遺伝子とその遺伝子のマウスのホモログを表-1 に示します。ゲノ

表-1 インプリンティング遺伝子のヒトとマウスの比較

ヒト			マウス		
遺伝子	染色体局在	発現	遺伝子	染色体局在	発現
<i>IGF2R</i>	6q25-27	母性、両親性	<i>Igf2r</i>	17番近位部	母性
<i>MAS</i>	6q25-27	?	<i>Mas</i>	17番近位部	父性
<i>IGF2</i>	11p15.5	父性	<i>Igf2</i>	7番近位部	父性
<i>H19</i>	11p15.5	母性	<i>H19</i>	7番近位部	母性
<i>MASH2</i>	11p15.5	?	<i>Mash2</i>	7番近位部	母性
<i>INS</i>	11p15.5	両親性	<i>Ins2</i>	7番近位部	父性
<i>p57^{KIP2}</i>	11p15.5	?	<i>p57^{KIP2}</i>	7番近位部	母性
<i>WT1</i>	11p13	母性	<i>Wt1</i>	2番	両親性
<i>SNRPN</i>	15q11.2-12	父性	<i>Snrpn</i>	7番近位部	父性
<i>PAR5</i>	15q11.2-12	父性			
<i>IPW</i>	15q11.2-12	父性			
<i>PAR1</i>	15q11.2-12	父性			
<i>ZNF127</i>	15q11.2-12	?	<i>Znf127</i>	7番近位部	父性
			<i>Peg3</i>	7番近位部	父性
			<i>Peg1/Mest</i>	6番近位部	父性
			<i>Ins1</i>	6番近位部	父性
<i>U2afbp-rs</i>	5,19,X	両親性	<i>U2afbp-rs</i>	11番近位部	父性
<i>CGB</i>	19q13.32	?			

ムインプリンティング現象が示す父親、母親由来のゲノムの機能的な違いは父親由来のゲノムからの発現する遺伝子群 (Peg ; paternally expressed genes) と母親由来のゲノムからのみ発現する遺伝子群 (Meg ; maternally expressed genes) の存在で説明できます。1991年に Igf2 (インシュリン様成長因子2) 遺伝子の父親性発現が報告されて、このような遺伝子の存在が明らかにされました。その後のヒト及びマウスにおいて数々のインプリンティングされている遺伝子が同定されています (表-1)。

ところでインプリンティングはどのようになされて発現が調節されているのでしょうか? どうやらインプリンティングは転写レベルで調節されているようです。この転写レベルの制御にはDNAのメチル化が大きく関与していることが種々の遺伝子の実験結果から示唆されています。インプリンティングされた遺伝子を分離して調べてみると、どの遺伝子でもプロモーター領域周辺の CpG アイランド (以前に説明しました) のCがメチル化されていました。さらに、父親、母親由来のゲノムにおいてDNAメチル化の程度に違いがある領域があることがわかりました。遺伝子の発現をみると、その多くの場合は、メチル化の少ない方の側から起きていました。この事実は、直接的にDNAメチルトランスフェラーゼ (DNAをメチル化を触媒する酵素) をノックアウトしたマウスを用いた実験結果から示唆されました。そのほかにインプリンティングの関与していると思われる機構としては核酸-タンパク質複合体であるクロマチン構造の変化、及びそれに伴うDNAの立体構造の変化も関わっている可能性もあります。例えばインプリンティングを受ける2つの遺伝子がある立体構造をとることにより隣接した位置にきたとします。その場合、クロマチンの凝縮によりエンハンサーとプロモーターの位置関係が変化し転写が調節されることも考えられます。親の性別に依存したクロマチン構造の変化が受精後も継続し、それを目印に目印にメチル化がおきるのかもしれない。

このようにして起きると考えられているゲノムインプリンティングですがこの現象が関与していると思われる疾患も報告されています (表-2)。ゲノムインプリンティング現象はインプリンティングされた遺伝子の発現の欠如や過剰発現の原因になります。ヒトでは、成長過大、内臓肥大、小児ガンの好発を特徴とする Beckwith-Wiedemann 症候群、成長障害、精神遅滞を特徴とする Angelman 症候群や Prader-Willi 症候群などがその先天異常症の代表例としてあげられます。

ヒトゲノム内に存在するインプリンティング遺伝子の

総数は総遺伝子の1%以下とも約200種とも推定されています。現在、種々な方法で単離・同定されています。これらで解析される、父親性インプリンティング、母親性インプリンティングの実態や分子機構は、ヒトの生殖医療に多大な貢献をされると思われれます。特に男性不妊の原因となると思われる、精子形成の解明に大きく貢献するのではないのでしょうか。

また、ゲノムインプリンティングに生物学的意味はどこにあるのでしょうか? 石野らは分離したインプリンティングされた遺伝子を体系的に解析した結果、これらのインプリンティングされた遺伝子の全てが哺乳類に特異的な臓器である胎盤組織で発現していることを見出しました。そこで彼等は「インプリンティング遺伝子は胎盤で発現されるように制御された遺伝子群である」と言う新しい仮説<新胎盤仮説>を提唱しています。その仮説で重要な点はインプリンティングされた遺伝子の中には胎盤の形成に必須な遺伝子が複数存在し、これら遺伝子が胎盤で発現しなければ哺乳類は個体発生できないということです。

最後に、なぜゲノムインプリンティングというこのような現象が起きるのか、又は起きる必要があるのか明らかではありませんが、ゲノムインプリンティングは生物が限られた遺伝情報を用いてゲノム機能にさまざまなバリエーションを生み出す方法として活かされていることは確かなようです。

表-2 インプリンティングが関与すると推定される疾患

疾患
Prader-Willi症候群
Angelman症候群
Beckwith-Wiedemann症候群
胎状容胎
卵巣奇形腫
3倍体
Wilms腫瘍
Silver-Russell症候群
Sotos症候群
インスリン依存性糖尿病
脆弱X症候群
神経繊維腫Ⅰ型
神経繊維腫Ⅱ型
小脳失調症
Pit-1異常による成長障害
遺伝性グロムス腫瘍

— MHC を取り巻く環境 : 21 世紀に向けて —

国立循環器病センター研究所 実験治療開発部・臓器移植研究室 佐田 正晴

「サル・シリーズ」も第8回を迎えることになった。振り返ってみると、若い諸兄には経験のない古典的理論や技術論を、脈絡無く書いてきたような気がしている。新世紀を迎え、早半年が過ぎようとしているが、最近とみに自然科学を中心に、これから進むべき方向性や将来得られると思われる成果を予想する多くのシンポジウムやフォーラムが開催されている。21世紀、MHC 領域がどのように医療分野に応用され変貌していくかを、つらつら考えてみた。

1. 移植医療は？

以前書いたように、同種移植については臓器や組織の提供者数が頭打ちで、今後レシピエント数に対応できるドナー数を確保することは全く不可能だろう。この限られた提供臓器を、如何に最適なレシピエントへ移植するか、この一点に集束されよう。臓器移植の組織適合性検査については、時間的制約による迅速性が要求されるが、何処で誰が検査しても同一な結果が出せるような、今まで以上の環境整備が更に必要になる（もっとも長時間臓器を保存できる方法が確立されれば迅速性だけは除外されるかもしれない）。レシピエントの PRA 検査は従来からの LCT 法から、生きたリンパ球を用いず QC の容易な Flow PRA 法へ完全に切り替わっていくだろう。この Flow PRA 法は、我々の経験から移植後のモニターリングにも有効で、拒絶反応を前もって察知出来ることから、移植臓器廃絶=再移植の法則を最小限に止められ全ての移植施設に導入されていくだろう。

現在の同種臓器移植は「人の死を期待する」医療であるが、異種移植はレシピエント数に相当する臓器数や種類を 100%提供が可能で、将来、同種から異種への移植が主流となろう。異種抗体、組織適合性抗原系の種のバリアーなど、乗り越えなければならないハードルは高く多いが、近年の急速な研究成果がこのハードルを打ち破る日も近い。21世紀の移植医療にとってもう一つの研究テーマは、クローン臓器の作成である。クローン技術の進歩により、本人と同じ遺伝子を持った組織や臓器を作り出すことが出来、免疫抑制剤フリーの移植が可能となろう。

21世紀の移植医療のキーワードは、「異種移植」と

「クローン技術を利用したオーダーメイド移植」であろう。

2. 再生医療は？

昨今、「再生医療」の言葉をよく聞く。事実、昨年あたりから研究費も大幅にアップされ、我々も恩恵を被っている。現在、我々は死ぬか補助心臓を装着しなければ助からない重篤な心筋梗塞患者の心筋再生補助のため、骨髄細胞や臍帯血から、選択的に心筋に分化する細胞を分離培養し、梗塞部位に注入する心筋再生の研究を行っている。また同種血管や心臓弁にレシピエントの内皮細胞をコーティングし拒絶反応を回避する研究や、同種から異種に応用範囲を拡大したり、人工物とレシピエントの細胞を組み合わせたハイブリッド型の再生組織などに取り組んでいる。

一方、再生医療の究極である、クローン技術を応用し同種や異種組織、細胞の遺伝子を改変し自己化した再生組織の作成にも積極的に取り組みつつある。

支持体、すなわち遺伝子を改変された細胞や組織が、正常に生体内でコントロールされるように人為的にプログラムされた異種、同種や自己の生体材料の作成が「オーダーメイド再生医療」に、直結していくだろう。

3. 遺伝子診断と治療法は？

21世紀末、と考えられていたヒトゲノムの解析が、急速な遺伝子工学の進歩と国際協力により、ほぼ終焉を迎えつつある。やっと生命の設計図である暗号文字の配列が、白日のもとに晒されたわけである。21世紀はこの配列が生命活動に対し、どのような働きをしているのか、すなわち遺伝子の機能解析に全勢力が注がれてははずである。何処の遺伝子の、どの部位の変異が疾患を引き起こすかが明確にされ、遺伝子をもとにした疾患診断が著しく正確に、かつ確実に行われるようになる。当然、その頃には疾患を誘発または助長するような、環境因子との因果関係も明らかにされてくるだろう。

変異遺伝子の改変、変異阻止遺伝子の導入による遺伝子治療も積極的に取り入れられ、治療のみならず病気の進行を遅らせ QOL を向上させることも、これからの新医療には不可欠な要素になっていくだろう。

4. 薬剤の開発と投与法は？

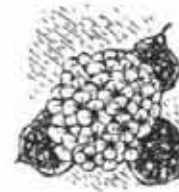
従来の薬剤は自然界に存在する動植物や化学合成により作られ、これら薬剤を、言葉は悪いが、取りあえず手当たり次第に投与し、治療を行ってきた。見た目が同じ病気でも、薬効に差が出ることは周知の事実で、この差が個人差を形成する遺伝子のなせる技であることも、全員が薄々感じていた。以前、欧米で行われた調査で、同一疾患に罹患した一卵性双生児に、同薬を同量投与しても薬効に差がある事が確認され、一卵性双生児でも発生・分化の過程で変異が起こり遺伝子の一部が異なってしまうことが分かってきた(100%生着すると考えられていた一卵性双生児間で拒絶反応が起こる、この現象は拒絶反応を惹起するマイナー遺伝子の変異により引き起こされる、と想定されているが)。しかし何処の遺伝子がどの位違っているのかは想像の域を出れず、稔然としなが体質の違い、でかたづけていた。ゲノム解析により疾患発症遺伝子の構造と機能が明確にされるだけでなく、今まで最大公約数的に開発されてきた薬剤が、疾患遺伝子に特異的に作用する「ゲノム創薬」へ向かっていくだろう。同じ薬でも、良く効くヒト、効かないヒトや副作用の無いヒト、ある人がいる。例えば抗ガン剤の薬効頻度は 20%前後で、大半は副作用に苦しむつつ死んでいく。取りあえず薬効を左右する遺伝子の解析を行い、個人の遺伝子情報に合致し最適な薬剤を選択し投与することにより、副作用を軽減し QOL を向上させることが可能だろう。これからの製剤は「ゲノム創薬」、投与は「オーダーメイド投与」に変革していくだろう。

遺伝子操作は、レシピエントに移植の機会を提供、機能不全組織の再生、非侵襲的な遺伝子診断による疾患の把握と治療、個人に適合した投薬など多くの恩恵をもたらしてくれる。アメリカを例にとれば投薬による副作用で入院する人は年間 200 万人以上で、その治療費だけでも推定で約 8 兆円といわれている。このような状況は世界共通で深刻な社会問題になっている。遺伝子解析とその機能の解明がもたらす、オーダーメイド移植・再生医療・診断・投薬は、著しい医療費の削減だけでなく、疾患の解明や個人にあった治療法、創薬、投与法の開発などで巨大な利益を生み出す。しかしヒトゲノム解析は、我々に多くの情報と研究余地、“光”の部分を提供してくれたが、“光”があれば“影”がある如く、欧米では個人遺伝子情報の流出や特定の疾患遺伝子を有している人への保険料の引き上げや職場での差別など人権問題にまで発展しつつある。遺

伝子研究はとかくこの“影”の部分強調されがちであるが、我々はやっと獲得した“光”を減じさせないように一層の努力が必要だろう。

21 世紀、MHC を取り巻く環境は益々多様化、流動化し総合的な視点が求められている。

この秋からは「KAMON」も変身を遂げようとしている。“サル・シリーズ”も今回で終稿とし、新たな変身を期そう思っている。脈絡のない本稿を粘り強く読んで下さった読者諸兄に心から感謝する。



佐治博夫のまかせなさい！ HLA研究所 所長

saji@mbox.kyoto-inet.or.jp

hla@hla-labo.org

この30年、HLAの世界はめまぐるしく変わった。血清学的方法論の確立、抗原の発見ラッシュ、ワークショップの貢献、DNA タイピング法の確立、機能の解明、組織適合性抗原から抗原提示分子へ、アレルの発見ラッシュ、マフィアから学際領域への脱皮。HLAの急速な展開はそれを利用すべき臨床や研究領域の戸惑いをもたらした。それは今でも続いている。HLA 専門家と称される人たちが、臨床家や研究者へ分かり易いことばで説明できなかつたことが主因といつてよい。まとまった教科書さえない。臨床家からの FAQ はいまだに「Split と broad とは？」「low resolution typing と high resolution typing はどう違う？」「小数点以下の抗原名はなに？ (A26.1 や DR4.1 など)」など、歴史的背景から説き起こさねばならず、ひとことで説明できないけれども基本的に理解しなければならぬことである。学際学会に成長変異した日本組織適合性学会と他学会他分野や臨床現場とのあいだにメディアエーターがますます必要になってきた。

それだけではない、HLA タイピングを支えるティッシュ・タイパーはすでに数世代の交代がなされ、教科書やスタンダードのないままに行われた世代交代が地域や施設間や領域間にある種の格差を生んでしまっている。

いま、日本組織適合性学会では「認定 HLA 検査技術者」「認定組織適合性指導者」を認定する制度が検討されていて、この秋の総会で承認されて発足しようとしている。すでに認定制度準備委員会は作業をほぼ終了し、理事会も数度にわたりこれを議論してきた。アンケートによる会員の意思も収集され、原案は学会誌にも掲載される。まもなく Net 上にも広報される予定である (<http://jsihi.umin.ac.jp/mhc.html>)。

認定制度はなぜ必要か (正面から)

HLA や組織適合性は多種多様な分野で利用される。利用される基本は HLA タイプである。利用分野は標準的な HLA タイピングを要求する。その要求を受容し提供する唯一の組織は日本組織適合性学会であろう。この学会が標準的な HLA タイピングのソフトを提供するのは当然の仕儀である。HLA タイピングの品質

はティッシュ・タイパーの資質に大きく依存する。それを認定することは HLA タイピングの標準化に貢献できる。間接的に学会の社会貢献度を高められる。

認定制度はなぜ必要か (斜めの視点から)

認定制度はいろいろなところへ波及するはずである。学会の活性化を望めるかもしれない。ティッシュ・タイパーの学習意欲を高めるであろうし、タイピングの依頼者は依頼先を容易に選択でき、結果として HLA タイピングの高品質化へ好循環するであろう。学会はあるべき「スタンダード」や「教育カリキュラム」を作成する方向を探るし、学会の持つべき、会員の教育という目的は促進されると思う。そして、これらの多くを支え、実行するのは学会の評議員や会員であるはずである。従来、理事会の追認機関でしかなかった(?) 評議員会は、その真価を発揮するようになるかもしれない。総じて学会の民主的発展が促進されることを期待したい。民主的発展の先に社会貢献が待っているし、社会のニーズはさらに学会を活性化するには不足である。

認定制度のめざすところ

HLA は知識を含め専門技術である。独特の進化で多様性を獲得した領域の、超特異な学問分野かもしれない。多くの血液型や SNPs のような単純な対立遺伝子のタイピングとは異質のセンスを必要とする。その専門家としてのティッシュ・タイパーを認定し、そのレベルを維持し、日進月歩の変化に対応させ、ネーション・ワイドのレベル設定と保証をするのが「認定 HLA 検査技術者」制度である。

制度の準備段階で多くの議論を尽くし、会員の意識調査(アンケート)を経て、もうひとつの認定制度が設けられることになった。「認定組織適合性指導者」である。HLA タイピングの精度維持に、ティッシュ・タイパーの資質とともに欠くべからざるはラボラトリーのファシリティーであろう。要するにディレクターの資質が重要である。さらに、臨床や他分野へ情報を発信し、質疑を受け止め、コンサルトする機能もまた HLA や組織適合性の分野では必須と考えられる。「認定組織適合性指導者」は組織適合性分野とそれをアブ

ライする臨床や他分野とのメディエーターの役割をも担うことになる。

なぜ「組織適合性指導者」か？

HLA と称さず、組織適合性と称するには意味がある。HLAはヒトのMajor Histocompatibility Complexであるが、組織適合性のすべてではない。むしろ臨床医学ではマイナー組織適合性抗原の重要性がますます高まりそうである。HLA 分子に表現されるペプチドのヒトとヒトとの違い (SNPsの一部) で、かつアロ免疫反応に関与するものをマイナー組織適合性抗原と呼んでいる。今後の SNPs 研究の重要な一部門でもある。その実態はホンの一部しか明らかにされていないが、HLA 抗原やアリルをひとつひとつ発見してきたわれわれの今後の大きなテーマである。

HLA とマイナー組織適合性抗原はいわば「物質的 (分子) 適合性」である。ヒトの臨床的組織適合性ではこの他に、「現象的組織適合性」のコンセプトを導入しなければならない。自然アロ免疫現象である哺乳動物における妊娠はその格好の研究材料である。母児間には免疫寛容が生じている。その免疫寛容は多くが分娩後、成長後も維持されているようである。子は NIMA (non-inherited maternal HLA antigens) に対して寛容であり、母は子の IPA (inherited paternal HLA antigens) に寛容が成立しているはずである。ミトコンドリアは母系遺伝であり、母子と同胞はミトコンドリアを共有している。父は蚊帳の外に置かれる。ミトコンドリアの DNA 多様性は核ゲノムのそれをはるかに上回るという。それはマイナー組織適合性抗原の一大原料かもしれない。このような現象的組織適合性をも加味してコンサルトできる人材を「認定組織適合性指導者」と位置付けている。いま移植臨床や、免疫分野での組織適合性コンサルトの需要は非常に多い。



コラム 効率を考える

東京医科歯科大学 難治疾患研究所

木村 彰方

最近ヒトゲノムの一次構造（塩基配列）のほぼ全貌が解明され、遺伝子の数はこれまでの推定より少なく約3万程度とされた。この数はショウジョウバエや線虫の約2倍程度である。しかしながら、ヒトゲノムにコードされるタンパクの種類を考えると、こちらの方は10万を越える（この数はヒトcDNAの種類が8～12万と推定されることからの類推）とされている。つまり、一般的に言って、真核生物は1つの遺伝子で複数のタンパクをコードすること、いわば「遺伝子の使い廻し」ないし「遺伝子の効率的利用」を行っていることになる。この効率的利用の方策は、選択的スプライシング（alternative splicing）によってエクソン利用の組み合わせを変えることであり、また異なるプロモーターからの転写開始である。さらに、このような転写レベルでの効率的遺伝子利用に加えて、タンパクのリン酸化や糖負荷のような翻訳後修飾も行われることから、タンパクの多様性はより高度となり、最終的には30万種類（このような数の推定の上では、より多い程景気がよいため、推定上限に近い数が示されるのが一般的である）を越えるヒトタンパクが存在するとも言われる。

このように述べると、あたかも1つの遺伝子が多数の機能を同時に発揮しているかのごとくとらえられるが、このような1遺伝子・複数タンパク産生が同時に行われていることはそう頻繁ではなく、特定の細胞へ分化する段階あるいは特定の発生段階にある際に、その発生や分化段階に応じて、その時点での細胞機能を担う特定の種類のタンパクを遺伝子の使い廻しで産生していることの方が一般的である。つまり、1つの遺伝子にそれぞれの発生・分化段階に応じた機能を担わせていることが、生物にとっての遺伝子の効率的な利用であると言えるようである。

これに対して、ヒトゲノム全体のうち遺伝子（エクソン）として利用されている領域はたかだか数%に過ぎず、ゲノムの大半はジャンクDNAであると言われている。もちろんこのジャンクDNAという言い方は正確ではなく、今のところ機能が不明であることに過

ぎないため、将来的にイントロン内や遺伝子間領域に生物学上の分担機能が発見される可能性は残されている。しかしながら、少なくとも現時点では、トランスポゾン様構造を持ったリピート領域やゲノムインプリンティングに関与するらしい領域を除くと、遺伝子間領域には何の生物学的機能もないように思える。すなわち、生物は「遺伝子の有効利用」を行う一方で、「ゲノム構造上の膨大な無駄」を有しているとも考えられる。

生物におけるこの膨大な無駄とも思える現象は、全ての体細胞が全ゲノム情報を保持していること（リンパ球における抗体遺伝子やT細胞レセプター遺伝子領域などの再編成遺伝子領域の部分除去などの一部の例外を除く）にも見てとれる。次世代にゲノム情報を伝えるための生殖細胞には全ゲノムを有する必然性があるが、他の体細胞にとって終生全ゲノム情報を保持する必要があるか？ 個々の細胞ごとに必要とする遺伝子のセットが異なるのであるから、それぞれに応じて必要な遺伝子の領域を保持することの方が、ゲノム構造の有効利用になるのではないかと。なぜ「無駄」が許されているのであろうか？

遺伝子利用における特異性、効率性を維持する上でそのような仕組みを持つこと自体が困難であるためかも知れないが、実はこの無駄は必然であるのかも知れない。昨今の再生医学研究の進展を見ていると、これまで再生がほとんど不可能であると思われていた心筋細胞の再産生（実際には骨髄中の幹細胞よりの新生分化）が可能となるなど、体細胞における全ゲノム情報の維持という一見無駄とも思える現象が、実は個体の生命維持を可能とするための方策であることがわかって来る。つまり、再生の可能性を保持するためには、体細胞における全ゲノム情報の維持も必然と言える。後になって利用することがあれば、保持されているゲノム情報は必ずしも無駄とは言えなくなるのである。このことを逆に言えば、効率的に利用する方策がなければ、無駄は無駄として終わることになる。つまり、例えば再生という現象がなければ、体細胞は無駄にゲ

ノム情報を保持しているように思われてしまう。何が有用で何が無駄であるかは、結局はそれを効率的に利用している（あるいは将来的に利用され得る）か否かで判断されることになるのである。

翻って「研究」を考えてみれば、多くの研究はそれが行われている時点では「無駄」に思われるかも知れない。将来的に有用であると論じてみても、「再生」ということがなければ体細胞に保持されていたゲノム情報が実は有用であったことがわからないように、その有用性は将来になってみなければ判断出来ないのである。「ゲノム」から「ポストゲノム」へと研究の規模は拡大しており、そこに投入される研究費は膨大なものとなっている。「ひょっとするとそれは膨大な無駄ではないか？」と思えることもある。しかしながら、この膨大な無駄の中にこそ真に有用な研究の展開が内在され得るのではなかろうか？ 無駄を無駄に終わらせないためには、この中からどれだけ効率的に有用な研究を選択出来るかにかかっている。要は効率の問題となるのである。

